

**IMMUNHISTOCHEMISCHER NACHWEIS VON LYSOZYM, ALPHA₁-
ANTICHYMOTRYPSIN UND ALPHA₁-ANTITRYPSIN IN BENIGNEN
UND MALIGNEN TUMOREN DER SPEICHELDRÜSEN**

RALF SCHMID

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. W. Permanetter

Mitberichterstatter: Prof. Dr. M. Eder

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 24. April 1986

**Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
Direktor: Prof. Dr. M. Eder**

**IMMUNHISTOCHEMISCHER NACHWEIS VON LYSOZYM, ALPHA₁-
ANTICHYMOTRYPSIN UND ALPHA₁-ANTITRYPSIN IN BENIGNEN
UND MALIGNEN TUMOREN DER SPEICHELDRÜSEN**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von
Ralf Schmid
aus
Dachau**

1986

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

I.	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	3
II.	IMMUNHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AN SPEICHELDRÜSENNEOPLASIE DES MENSCHEN	5
1.	<u>Material und Methodik</u>	
1.1.	Versuchsmaterial	5
1.2.	Versuchsmethode	5
1.3.	Versuchsdurchführung	7
1.4.	Verwendete Reagenzien	9
1.5.	Herkunft und Aufbereitung der verschiedenen Antikörper	11
1.6.	Auswertung	11
2.	<u>Die Speicheldrüsen des Menschen</u>	
2.1.	Einleitung	13
2.2.	Die normale makroskopische und mikro- skopische Anatomie der menschlichen Speicheldrüsen	14
2.2.1.	makroskopische Anatomie	14
2.2.2.	mikroskopische Anatomie	14
2.2.3.	Immunhistochemie	17
2.3.	Diskussion der Normalbefunde	20
3.	<u>Die benigne lymphoepitheliale Läsion der menschlichen Speicheldrüsen</u>	
3.1.	Einleitung	25
3.2.	makroskopische Pathologie	26
3.3.	mikroskopische Pathologie	26
3.4.	Immunhistochemie	27

	Seite
4. <u>Epitheliale Tumoren der menschlichen Speicheldrüsen</u>	
4.1. Einleitung	29
4.2. Adenome	31
4.2.1. pleomorphes Adenom	31
4.2.1. monomorphe Adenome	36
- Adenolymphom	36
- Onkocytom	40
- sonstige Arten	43
4.3. Mucoepidermoidtumor	47
4.4. Acinuszelltumor	50
4.5. Carcinome	54
4.5.1. adenoid - cystisches Carcinom	54
4.5.2. Adenocarcinom	57
4.5.3. Plattenepithelcarcinom	59
4.5.4. undifferenziertes Carcinom	61
4.5.5. Carcinom in pleomorphem Adenom	64
4.6. Zusammenfassung der Befunde	66
5. <u>Diskussion der Befunde unter 3. und 4.</u>	70
III. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE	85
IV. LITERATURVERZEICHNIS	87

I. EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG

Geschwülste der Mundspeicheldrüsen machen nur etwa 1% aller menschlichen Tumoren aus (Seifert 1966, Thackray und Sobin 1972). Trotz dieses vergleichsweise geringen Anteils sind gerade diese Tumoren wegen ihrer ungewöhnlichen Vielfalt des morphologischen Erscheinungsbildes immer wieder Gegenstand umfangreicher klinisch-morphologischer Untersuchungen gewesen. Es gibt im menschlichen Körper kaum ein zweites Gebiet, das eine ähnliche Vielfalt von Geschwülsten hervorbringt. Bemerkenswert ist, daß die Bauchspeicheldrüse nicht diese Vielfalt neoplastischer Veränderungen zeigt. Auch dies ist ein Hinweis darauf, daß nicht das Speicheldrüsengewebe an sich zu dieser Mannigfaltigkeit von Tumorbildungen neigt, sondern daß ein Zusammenhang mit den anatomischen Verhältnissen und der Entwicklungsgeschichte dieser Körperregion bestehen muß. Ein Vergleich der in Tumoren der Mundspeicheldrüsen auftretenden Zelldifferenzierungen mit den verschiedenen Stadien der Parotisentwicklung zeigt, daß doch deutliche Ähnlichkeiten mit embryonalen Zelltypen bestehen (Donath et al. 1978). Das Vorkommen von Myoepithelzellen im Gewebe der Mundspeicheldrüsen, die im normalen Pankreasgewebe nicht vorhanden sind, scheint auch ein wesentlicher Faktor für die Artenvielfalt der Mundspeicheldrüsentumoren zu sein (Hübner et al. 1971).

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, mögliche Zusammenhänge zwischen dem immunhistochemisch nachweisbaren Gehalt an Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin und der Histogenese, Differenzierung sowie dem biologischen Verhalten der Speicheldrüsentumoren aufzudecken. Außerdem sollte geprüft werden, ob Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin oder Alpha₁-Antitrypsin eine Bedeutung als Tumormarker bei der Klassifizierung von Speicheldrüsentumoren zukommt. In den folgenden Kapiteln ist der Beschreibung des Versuchsmaterials und der Untersuchungsmethode eine Darstellung und Diskussion der Normalbefunde der menschlichen Speicheldrüsen

vorangestellt. Der Vergleich immunhistochemischer Befunde von normalem Speicheldrüsengewebe und tumorös umgewandeltem Gewebe sollte einen Beitrag zur histogenetischen Deutung dieser Tumoren liefern.

Die benigne lymphoepitheliale Läsion wird als Beispiel eines entzündlichen Geschehens im Bereich der Speicheldrüsen daran anschließend beschrieben. Die hier erhobenen immunhistochemischen Befunde sollen im Vergleich mit denen bei neoplastischem epithelialen Wachstum von Speicheldrüsengewebe diskutiert werden.

Es folgt die Beschreibung der epithelialen Speicheldrüsentumoren, wobei die inzwischen allgemein akzeptierte und angewandte WHO-Klassifikation der Speicheldrüsentumoren (Thackray und Sobin 1972) als Gliederungsgrundlage diene. Bei jeder Tumorart wird kurz auf die Häufigkeit, Alters- und Geschlechtsverteilung im Material der Außenstelle Großhadern des Pathologischen Instituts der Universität München (1978 - 1983) eingegangen. Es schließt sich eine Beschreibung der makroskopischen und mikroskopischen Pathologie, sowie eine Darstellung der gängigen Theorien zur Histogenese der jeweiligen Tumorart an. Abschließend werden die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen immunhistochemischen Befunde eingehend beschrieben. In einer zusammenfassenden Betrachtung wird versucht, die erhobenen Befunde auf ihre Wertigkeit im Rahmen der Diagnostik und Fragen der Tumorentstehung bzw. des Tumorverhaltens unter Einbezug der Literatur zu diskutieren.

II. IMMUNHISTOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN AN SPEICHELDRÜSENNEOPLASIEEN DES MENSCHEN

1. Material und Methodik

1.1. Versuchsmaterial:

Für die Untersuchungen wurde unausgewähltes Biopsiematerial (Gesamtzahl der Speicheldrüsentumoren $n = 253$) verwendet, das zwischen 1978 und 1983 in der Außenstelle des Pathologischen Instituts der Universität München (Direktor: Prof. Dr.M.Eder) anfiel.

Immunhistochemisch untersucht wurden:

- 13 pleomorphe Adenome
- 10 Adenolymphome
- 2 Onkozytome
- 10 sonstige monomorphe Adenome
- 3 Mucoepidermoidtumoren
- 9 Acinuszelltumoren
- 10 adenoid - cystische Carcinome
- 4 Adenocarcinome
- 3 Plattenepithelcarcinome
- 9 undifferenzierte Carcinome
- 4 Carcinome in pleomorphen Adenomen
und zum Vergleich
- 9 Speicheldrüsen mit Veränderungen entsprechend
einer benignen lymphoepithelialen Läsion

Von den in neutralem Formalin fixierten und in Paraffin eingebetteten Präparaten wurden 5µm dicke Schnitte angefertigt und 20 Std. bei 60°C im Wärmeschränk auf Objektträgern getrocknet. Die Fixierung in neutralem Formalin vermindert Artefakte und unspezifische Bindungen im Zytoplasma (Bergroth et al. 1982) und bietet so die Grundlage für eine möglichst genaue Auswertung.

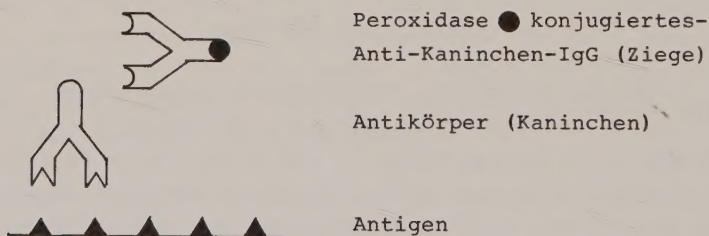
1.2. Versuchsmethode:

Zum Nachweis von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin wurde die indirekte Immunperoxidasemethode ange-

wandt. Seit mehreren Jahren findet die Immunperoxidase-methode weitverbreitet Anwendung zur Auffindung und Darstellung von spezifischen Antigenen des Zytoplasmas, der Zellmembran und von Zellprodukten. In der Pathologie und der Immunologie gehört sie inzwischen zur Routinediagnostik. Gegenüber der Immunfluoreszenztechnik bietet sie den entscheidenden Vorteil der Anwendung auch an fixiertem und in Paraffin eingebettetem Material. Retrospektive Studien, wie die hier vorliegende Untersuchung, wurden so erst möglich. Ein weiterer Vorteil besteht in der besser erhaltenen Morphologie und somit genaueren Auswertungsmöglichkeit (Taylor 1978).

Bei der indirekten Immunperoxidase-methode handelt es sich um eine Antigen/Antikörperreaktion. Zunächst erfolgt die Inkubation mit einem Antiserum, welches gegen das zu untersuchende Antigen gerichtet ist. Danach schließt sich die Inkubation mit einem peroxidasekonjugierten Antikörper einer zweiten Spezies an, der direkt gegen die Immunglobulinkomponenten des ersten Antiserums gerichtet ist (s. Abb.1).

Abb.1: Schematische Darstellung der indirekten Immunperoxidase-methode



Von Vorteil erscheint die höhere Sensitivität gegenüber der direkten Immunperoxidase-methode (Taylor 1978), da die Sensitivität mit der Anzahl der Reaktionsschritte ansteigt (Bergroth et al. 1980). Allgemeine Nachteile der peroxidasekonjugierten Methoden sind die mögliche Denaturierung von Antikörpern, Inaktivierung von Enzymen und die meist verbleibende

nichtspezifische Hintergrundfärbung (Taylor 1978, Bergroth et al. 1980). Bei Techniken ohne Konjugation (z.B. "Enzymbrückenmethode", "PAP-Methode") würden einige dieser Nachteile entfallen, andererseits entstehen aufgrund der größeren Anzahl von Reaktionsschritten neue Fehlerquellen. Zumeist verbleibt auch bei diesen Methoden eine unspezifische Hintergrundfärbung (Bergroth et al. 1980).

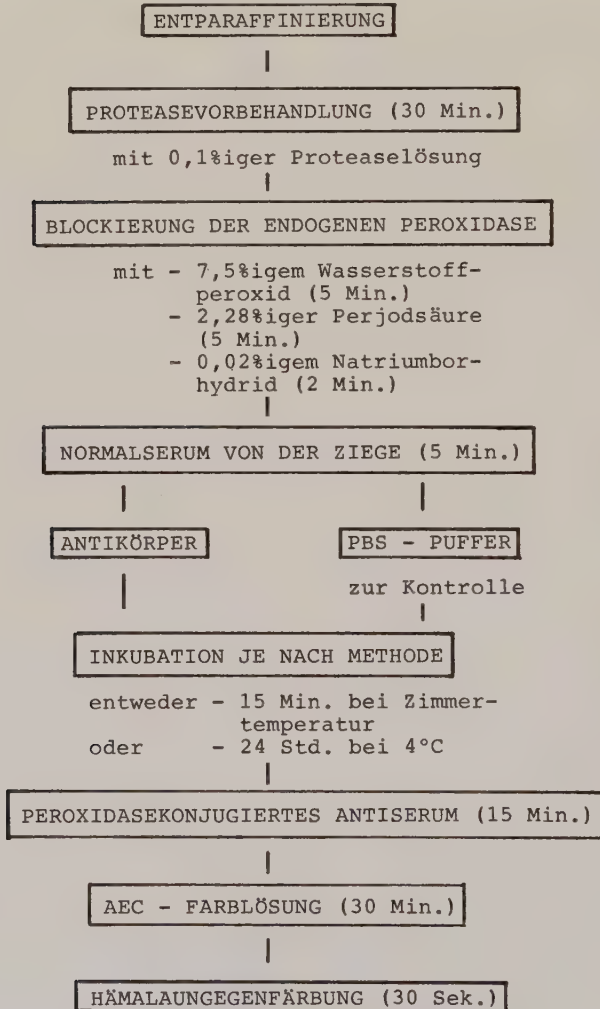
1.3. Versuchsdurchführung:

Das technische Vorgehen erfolgte entsprechend des unten angeführten Schema (Abb.2, s. auch Nathrath und Meister 1981, Permanetter und Meister 1984).

Die 5µm dicken, auf Objektträger aufgezogenen Schnitte wurden bei 60°C für etwa 20 Std. im Wärmeschrank getrocknet. Nach dem Abkühlen erfolgte die Entparaffinierung in jeweils frischem Xylolbad (1 x 5 Min. und 2 x 10 Min.). Zur Rehydrierung wurden die Schnitte in einer abfallenden Alkoholreihe (100% - 96% - 70%) behandelt. Ein darauffolgendes zweiminütiges Bad in Aqua dest. diente zum Auswaschen des Alkohols. Anschließend wurde die 0,1%ige Proteaselösung möglichst gleichmäßig mittels einer Eppendorfpipette aufgebracht, um die unspezifische Hintergrundfärbung zu reduzieren (Burns 1975, Wittig 1977, Meister und Nathrath 1981). Die Inkubation erfolgte für 30 Min. bei Zimmertemperatur. Zum Auswaschen der Protease wurde ein 60minütiges Bad in gut vorgekühltem PBS-Puffer bei 4°C angeschlossen. Die endogene Peroxidaseaktivität wurde durch Behandlung mit 7,5%igem Wasserstoffperoxid (1 x 5 Min.), 2,28%iger Perjodsäure (1 x 5 Min.) und 0,2%igem Natriumborhydrid (1 x 2 Min.) geblockt. Zwischen den einzelnen Schritten wurde jeweils für 5 Min. in leicht fließendem Leitungswasser gespült. Nach der Behandlung mit 0,2%igem Natriumborhydrid wurde zweimal für 5 Min. in PBS-Puffer gewaschen. Zur weiteren Reduzierung der unspezifischen Hintergrundfärbung erfolgte die Blockierung von unspezifischen Bindungsstellen der Antikörper im kollagenen und retikulären Bindegewebe durch Aufbringen von Ziegennormalserum (1:20) und anschließender 5minütiger Inkubation

bei Zimmertemperatur (Taylor 1978). Anschließend erfolgte ein erneutes Waschen in PBS-Puffer (2 x 5 Min.).

Abb.2: Schematische Darstellung der Versuchsdurchführung



Danach wurde der entsprechende Antikörper vom Kaninchen (Lysozym 1:200; Alpha₁-Antichymotrypsin 1:1200; Alpha₁-Antitrypsin 1:1200) aufgebracht. Je nach Methode erfolgte die Inkubation entweder 15 Min. bei Zimmertemperatur oder 24 Std. bei 4°C. Nach der Inkubation wurden die Schnitte in jeweils frischer Briylösung für 2 x 5 Min. gewaschen. Daran anschließend wurde mit peroxidasekonjugiertem Anti-Kaninchen-IgG-Antiserum von der Ziege (1:800) für 15 Min. bei Zimmertemperatur inkubiert. Es erfolgte ein erneutes Waschen in jeweils frischer Briylösung (2x5 Min.). Zur Sichtbarmachung der Reaktion wurden die Schnitte 30 Min. in AEC-Farblösung (3-Amino-9-Äthyl-Carbazol) behandelt. Diese Lösung wurde grundsätzlich frisch in Michaelispuffer (pH = 7,4) angesetzt. Nach diesem Färbeprozess wurde für 10 Min. im leicht fließenden Leitungswasser gespült. Daraufhin erfolgte eine Gegenfärbung in Hämalun (30 Sek.) und erneutes Spülen im leicht fließenden Leitungswasser (10 Min.). Abschließend wurden die Schnitte mittels angewärmter KAISER's Glyzeringelatine eingedeckt.

1.4. Verwendete Reagenzien:

a) PBS-PUFFER:

In etwa 3 l Aqua dest. wurden gelöst und anschließend mittels Magnetrührer für 1 Std. gut vermischt:

- 42,50 g NaCl

- 6,35 g Na₂HPO₄

- 1,95 g NaH₂PO₄

Darauffolgend wurde mit Hilfe von NaOH ein pH-Wert von 7,25 eingestellt. Abschließend wurde mit Aqua dest. auf 5 l aufgefüllt (Aufbewahrung erfolgte bei Zimmertemperatur).

b) 0,1%ige PROTEASE LÖSUNG:

100 mg Protease Typ 7 (SIGMA, München, BRD) wurden in 100 ml PBS-Puffer gelöst und gut gemischt. Die Aufbewahrung erfolgte bei 4°C im Kühlschrank.

- c) 7,5%iger WASSERSTOFFPEROXID:
50 ml 30%ige Perhydrollösung wurden jeweils kurz vor Verwendung mit 150 ml Aqua dest. gemischt.
- d) 2,28%ige PERJODSÄURE:
22,8 g kristalline Perjodsäure wurden in 1000 ml Aqua dest. gelöst, gut gemischt und bis zur Verwendung im Kühlschrank aufbewahrt.
- e) 0,02%iges NATRIUMBORHYDRID:
40 mg Natriumborhydridpulver wurden in 200 ml Aqua dest. jeweils kurz vor Gebrauch gelöst und gut gemischt.
- f) ZIEGENNORMALSERUM 1:20:
Das lyophilisierte Ziegennormalserum (NORDIC, Tilburg, Netherlands) wurde in 1 ml Aqua bidest. innerhalb 1 Std. gelöst. Sodann wurde mit 20 ml PBS verdünnt und gut gemischt. Die Aufbewahrung erfolgte im Kühlschrank.
- g) BRIYLÖSUNG (Brij 30, SIGMA, USA):
1 ml 30%ige Briylösung wurden zunächst in 29 ml PBS-Puffer verdünnt und gut gemischt. 5 ml dieser 1%igen Lösung wurden nun in 1000 ml PBS-Puffer weiter verdünnt und gut gemischt. Die Aufbewahrung der 1%igen Lösung erfolgte bei Zimmertemperatur.
- h) AEC-FARBLÖSUNG:
Die Zubereitung erfolgte jeweils frisch, kurz vor Gebrauch. 100 ml vorbereiteter Michaelispuffer (20,6 g Diaethylenbarbitursäure - Natriumsalz gelöst in 1000 ml Aqua dest.) wurde mittels HCl auf einen pH von 7,4 eingestellt. Nach Filtrieren wurden 20 mg 3-Amino-9-Äthyl-Carbazol gelöst in 12 ml Dimethylsulfoxid (MERCK, Darmstadt, BRD) zugesetzt.

Nachfolgend wurde mit Aqua dest. auf 200 ml aufgefüllt. Abschließend erfolgte die Zugabe von 10 µl 30%iger Perhydraulösung.

1.5. Herkunft und Aufbereitung der verschiedenen Antikörper:

Bei den verwendeten Antikörpern vom Kaninchen handelt es sich um käufliche Seren der Fa. Dako (Boehringer, Ingelheim). Folgende Antikörper fanden Verwendung:

- Lysozym
- Alpha₁-Antichymotrypsin
- Alpha₁-Antitrypsin

Bei Vorversuchen wurden Verdünnungen (in PBS-Puffer) für eine möglichst intensive spezifische Reaktion und möglichst geringe unspezifische Hintergrundreaktion ermittelt. Dabei ergab sich für Lysozym eine Verdünnung von 1:200 (s. auch Bergroth et al. 1980), bei Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin von 1:1200 (in PBS-Puffer) als am günstigsten. Die Aufbewahrung der Antikörper erfolgte bei 4° C im Kühlschrank. Die Verdünnungen wurden jeweils möglichst frisch erstellt und bei selben Bedingungen gelagert.

Das peroxidasekonjugierte Anti-Kaninchen-IgG-Antiserum von der Ziege ist käuflich bei Fa. Miles, Frankfurt, BRD. Bei den Versuchen wurde eine Verdünnung von 1:800 (in PBS-Puffer) verwendet und bei 4° C im Kühlschrank aufbewahrt.

1.6. Auswertung:

Grundsätzlich muß gesagt werden, daß nur granuläre Reaktionen als positiv gewertet wurden. Die Auswertung erfolgte semiquantitativ in drei Stufen:

- keine oder gelegentlich sehr schwache Reaktion
- + schwache bis mäßige Reaktion
- ++ starke bis sehr starke Reaktion

Bei dieser Einteilung wurden sowohl Intensität der Reaktion, als auch Anzahl der reagierenden Zellen (- = 0 - 1%, + = 1 - 20%, ++ = 20 - 100%) berücksichtigt. Zum Nachweis der erfolgten Reaktion und als Maßstab für die Reaktionsintensität (zur Einteilung in o.g. Schema) diente ein Kontrollschnitt. Je nach dem zu untersuchenden Enzym wurde für diesen Kontrollschnitt Gewebe verwandt, das in Vorversuchen eine starke Reaktion für das entsprechende Enzym zeigte.

Zur Erkennung unspezifischer Bindungen wurde ein zusätzlicher Gewebsschnitt verwendet, der anstatt mit spezifischem Antikörper nur mit PBS-Puffer behandelt und inkubiert wurde. Dadurch konnten falsch-positive Reaktionen erkannt werden.

Zur besseren morphologischen Zuordnung der stattgefundenen Reaktionen wurde von jedem untersuchten Präparat ein Hämalaun/Eosin gefärbter Schnitt angefertigt. Zur endgültigen Auswertung wurden nur Schnitte mit einer Antikörper-Inkubationszeit von 24 Std. (bei 4° C) herangezogen, da sich bei dieser Inkubationszeit ohne wesentliche Zunahme der Hintergrundreaktion die deutlichste Darstellung der spezifischen Reaktionen ergab.

2. Die Speicheldrüsen des Menschen

2.1. Einleitung:

Drei paarige große Speicheldrüsen werden unterschieden:

- Glandulae parotidea (Ohrspeicheldrüsen)
- Glandulae submandibulares (Unterkieferspeicheldrüsen)
- Glandulae sublinguales (Unterzungenspeicheldrüsen)

Außerdem sind ungefähr 700 - 1000 einzelne kleine Speicheldrüsen in der Mund- und Rachenschleimhaut verteilt. Große und kleine Drüsen produzieren Speichel, dessen Tagesmenge 0,5 - 2,0 l beträgt. Die Speichelproduktion unterliegt einer Tagesrhythmik, die mit morphologischen Strukturveränderungen der Drüsenzellen einhergeht (Seifert und Donath 1976). Hauptbestandteile des Speichels sind Mucopolysaccharide, Glykoproteide (Schleim, Blutgruppensubstanzen), Eiweißkörper (Alpha-Amylase, Immunglobulin A, Lysozym u.a.) sowie Elektrolyte. Man unterscheidet einen mukösen, zähflüssigen Speichel (vorwiegend Glykoproteine) von einem serösen, dünnflüssigen Speichel, der die Stärke spaltende Alpha-Amylase enthält. Zu den rein serösen Speicheldrüsen zählen die Glandulae parotidea. Als gemischte (serös-muköse) Speicheldrüsen werden die Glandulae submandibulares und die Glandulae sublinguales bezeichnet. Entwicklungsgeschichtlich sind die Speicheldrüsen ektodermalen Ursprungs. Ausgangspunkt der Entwicklung sind solide Epithelabsprossungen des Kopfdarmes zwischen der 4. und 8. Embryonalwoche. Erst nach der Geburt findet die volle Ausreifung des Drüsengewebes statt (Seifert 1966). Die Histogenese der Myoepithelzellen ist noch nicht vollständig geklärt. Neuere Untersuchungen sprechen für einen ebenfalls ektodermalen Ursprung (Donath et al. 1978).

2.2. Die normale makroskopische und mikroskopische Anatomie der menschlichen Speicheldrüsen:

2.2.1. makroskopische Anatomie:

Die Glandula parotis ist die größte der Speicheldrüsen. Der 20 - 30 g schwere Drüsenkörper liegt in der Fossa retromandibularis umgeben von einer bindegewebigen Kapsel. Durchzogen wird die Drüse vom N. facialis. Ihr ca. 5 - 6 cm langer Ausführungsgang verläuft über den M. masseter und mündet gegenüber des zweiten oberen Molaren in den Vorhof der Mundhöhle.

Die Glandula submandibularis liegt unterhalb des Mundbodens im Trigonum submandibulare, eingeschlossen in das oberflächliche Blatt der Halsfaszie. Ihr etwa 5 cm langer Ausführungsgang mündet neben dem Zungenbändchen in den Mundboden.

Die Glandula sublingualis wölbt den Mundboden zur Plica sublingualis vor. Ihr dorsaler Anteil kann bis zur Glandula submandibularis reichen. Ihr Ausführungsgang mündet gemeinsam mit dem der Glandula submandibularis am Zungenbändchen.

Die vegetative Versorgung der Speicheldrüsen erfolgt sowohl sympathisch wie auch parasympathisch.

2.2.2. mikroskopische Anatomie:

Die großen und kleinen Speicheldrüsen zeigen ein gemeinsames Bauprinzip. Zum einen besteht ein acinäres Funktionssystem, welches einen Primärspeichel produziert, der in einem zweiten ductalen Funktionssystem durch Resorption, Sekretion und Regulation zum endgültigen Ausscheidungsprodukt umgeformt wird (s. Abb.3).

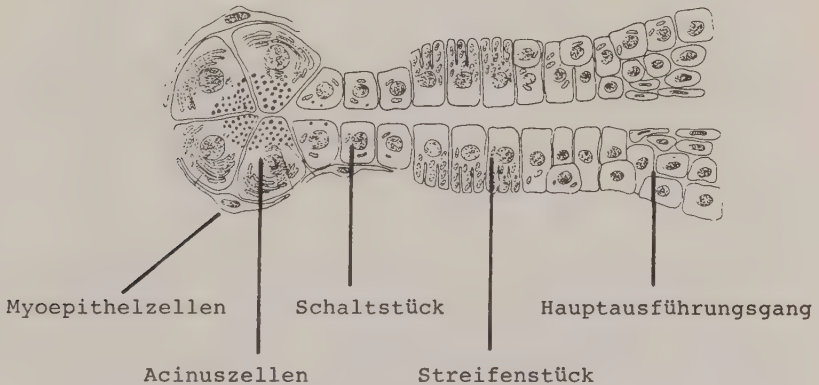
Die einzelnen Speicheldrüsen zeigen eine Läppchenstruktur. Ihre Endstücke sind unterschiedlich geformt.

Seröse Drüsenendstücke sind durch hohe Epithelien mit rundem, zentral liegendem Zellkern gekennzeichnet. Ihr Drüsenlumen ist klein und sie reagieren stark basophil. Elektronenmikroskopisch läßt sich ein reichlich entwickeltes rauhes endoplasmatisches Reticulum erkennen. Zwischen den einzelnen Acinuszellen verlaufen kleine Sekretkanäle, die

in das Drüsenlumen münden.

Die Endstücke der mukösen Drüsen besitzen nicht so hohe Epithelien. Ihr flacher Zellkern befindet sich basal. Ihr Drüsenlumen ist weit und sie reagieren nur schwach basophil. Elektronenmikroskopisch besitzen sie wenig endoplasmatisches Reticulum, aber zahlreiche Schleimvacuolen im Zytoplasma.

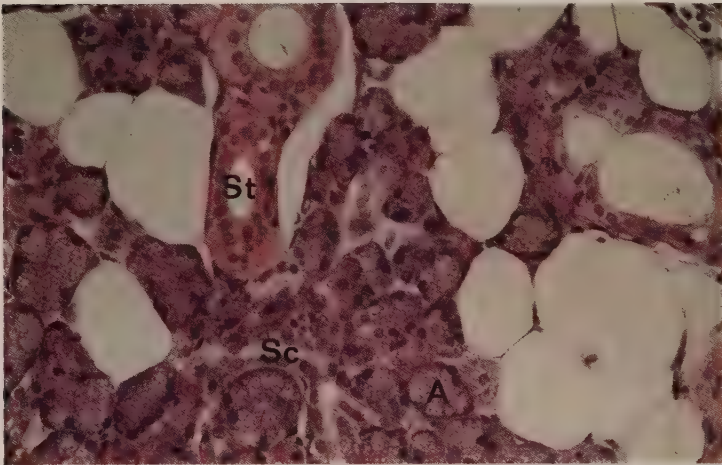
Abb.3: Schematische Darstellung der anatomischen Verhältnisse einer acinären-ductalen Funktionseinheit (nach Regezi und Batsakis 1977)



Um die Acinuszellen sind ebenso wie um die Schaltstücke und die proximalen Anteile der Streifenstücke Myoepithelzellen angeordnet. Sie enthalten Myofilamente und bilden so ein kontraktiles Netz. Die Kontraktion führt zu einer Art Melkbewegung und somit zum Druckanstieg im Drüsenlumen. Das Ausführungsgangsystem schließt an die Drüsenendstücke an. Die Hauptaufgabe ist die Wasser- und Elektrolytabgabe. Es werden Schaltstücke, Streifenstücke und Hauptausführungsgänge unterschieden. Schaltstücke besitzen ein flaches einschichtiges Epithel mit basophilem Zytoplasma und großem Zellkern. Die daran anschließenden Streifenstücke zeichnen sich durch ebenfalls einschichtiges, aber prismatisches Epithel mit azi-

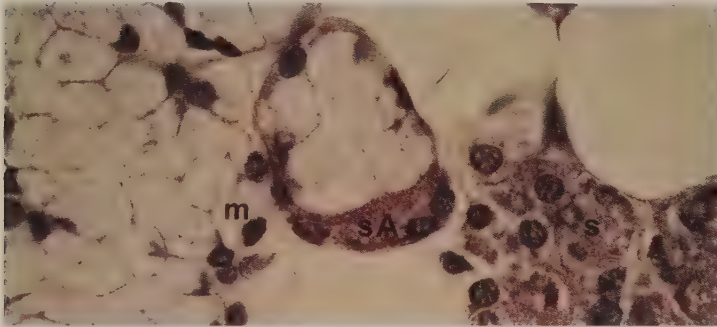
dophilem Zytoplasma und kleineren Zellkernen aus. Die Hauptausführungsgänge besitzen überwiegend Transportfunktion. Sie enthalten kollagene und elastische Faserbündel, aber keine Myoepithelzellen. Ihr hochprismatisches Epithel ist ein oder zweischichtig, das Lumen weit.

Abb.4: Normale Glandula parotis.
Übersicht mit serösen Acinuszellen (A), Schaltstücken (Sc) und Streifenstücken (St).
Paraffinschnitt, HE (Vergr. 230fach)



Eine Besonderheit der Speicheldrüsen stellt die Entwicklung intraglandulärer Lymphknoten mit Parenchymeinschlüssen dar. Erklärbar erscheint diese Erscheinung durch die enge entwicklungsgeschichtliche Verknüpfung von lymphatischem Gewebe und Drüsenparenchym (Seifert 1966).

Abb.5: Normale Glandula submandibularis.
Seröse (s) und muköse (m) Endstücke, in Bild-
mitte gemischtes Endstück mit halbmondförmig
aufsitzenen serösen Acinuszellen (sA).
Paraffinschnitt, HE (Vergr. 600fach).



2.2.3. Immunhistochemie:

Mit den gebräuchlichen immunhistochemischen Methoden wurden die verschiedensten funktionellen Marker im normalen Speicheldrüsenngewebe untersucht.

Amylase wurde dabei vorwiegend in den serösen Acinuszellen gefunden (Kraus und Mestecky 1971, Korsrud und Brandtzaeg 1982). Über das Vorkommen von Laktoferrin liegen unterschiedliche Berichte vor. Es wird von alleinigem Vorkommen im duc-talen System berichtet (Reitamo et al. 1980, Korsrud und Brandtzaeg 1982), ebenso wie vom überwiegenden Nachweis in den Acinuszellen (Caselitz et al. 1981).

Immunglobuline lassen sich sowohl in den Acinuszellen als auch in Schalt- und Streifenstücken nachweisen (Kraus und Mestecky 1971, Korsrud und Brandtzaeg 1982).

Das Vorkommen von Lysozym wurde häufig immunhistochemisch untersucht. Kraus und Mestecky (1971) berichten nur von einer schwachen Reaktion im Bereich der Streifenstücke. Mason und Taylor (1975) fanden eine positive Reaktion der serösen Acinuszellen gemischter Speicheldrüsen. Kein Nachweis gelang je-

doch in der rein serösen Glandula parotis. Klockars und Reitamo (1975) berichten ebenfalls vom Vorkommen in serösen Endstücken gemischter Speicheldrüsen, jedoch auch in den Schaltstücken der Glandula parotis. Neuere Untersuchungen wiesen Lysozym in den serösen Acinuszellen aller Speicheldrüsen, wie auch in ihren Schaltstücken nach (Caselitz et al. 1981, Korsrud und Brøndtzaeg 1982).

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurde auch normales Speicheldrüsengewebe auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha_1 -Antichymotrypsin und Alpha_1 -Antitrypsin untersucht. In diesem normalen Drüsengewebe fand sich eine Reaktion für Lysozym in den serösen Acinuszellen, wie auch in den Schaltstücken sowohl der rein serösen Glandula parotis, als auch der gemischten Glandula submandibularis. Die positive Reaktion der Acinuszellen war stark ausgeprägt, zeigte aber starke Unterschiede in verschiedenen Arealen desselben Präparates. Die Schaltstücke zeigten mäßig positive Reaktionen, welche aber gleichmäßiger verteilt erschienen.

Abb.6: Normale Glandula submandibularis. Positiver Nachweis von Lysozym in den halbmondförmig aufsitzenden serösen Acinuszellen (Pfeil) eines gemischten Endstückes. Die mukösen Acinuszellen zeigen keine Reaktion. Paraffinschnitt, Kernfärbung mit Hämalaun (Vergr. 950fach)

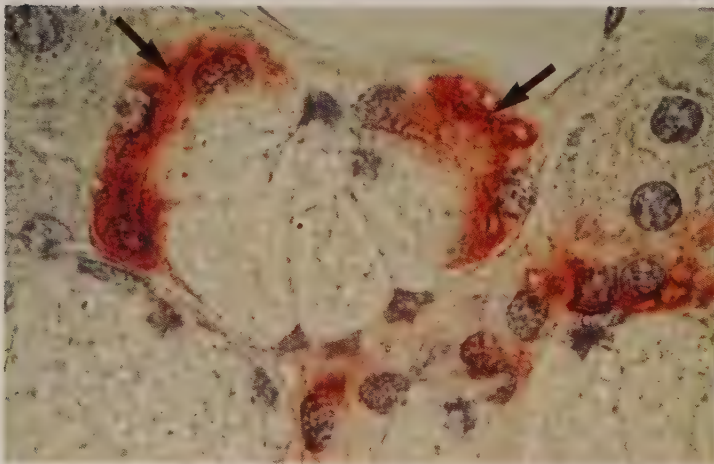
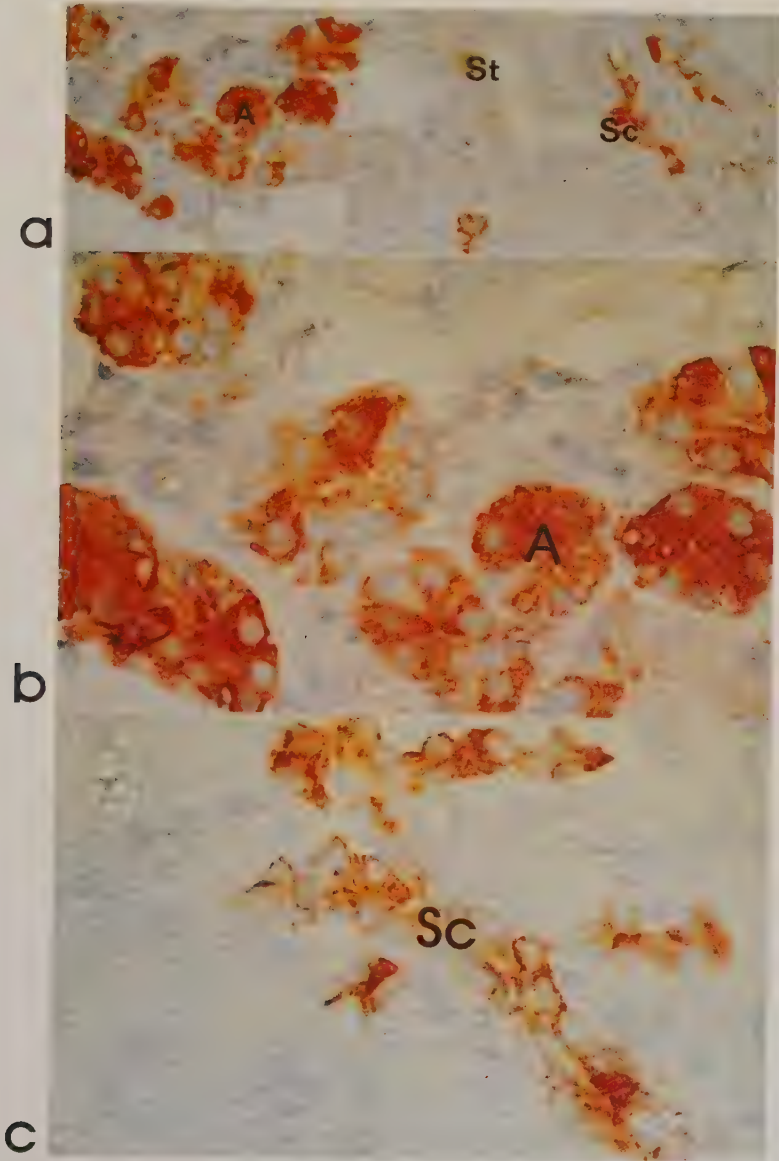


Abb.7: Normale Glandula parotis.
Darstellung des Lysozyms in Acinuszellen (A) und
Schaltstücken (Sc). Keine Reaktion zeigten die
Streifenstücke (St).
Paraffinschnitt, Kernfärbung mit Hämalaun
(Vergr. a) 230fach, b) und c) 600fach)



Weder Acinuszellen, noch Schalt- oder Streifenstücke des normalen Speicheldrüsengewebes zeigten bei unseren Untersuchungen eine positive Reaktion für Alpha₁-Antichymotrypsin oder Alpha₁-Antitrypsin.

2.3. Diskussion der Normalbefunde:

Drei paarige große Speicheldrüsen (Glandulae parotidea, Glandulae submandibulares, Glandulae sublinguales) und 700 - 1000 kleine Speicheldrüsen sind für die Sekretion des Mundspeichels verantwortlich. Sie sind in Läppchen gegliedert und unterliegen dem gleichen Bauprinzip. Seröse und muköse Endstücke werden dabei unterschieden. Ihre Hauptaufgabe besteht in der Produktion eines Primärspeichels, der im anschließenden ductalen System zum endgültigen Ausscheidungsprodukt umgeformt wird. Die Hauptfunktionen des Speichels lassen sich aus seiner Zusammensetzung ableiten.

Die Verdauungsfunktion besteht einerseits in der Durchfeuchtung der Nahrung und gleichzeitigem Ausgleich chemischer (Pufferung) und thermischer Noxen. Andererseits bewirkt die im Speichel enthaltene Alpha-Amylase bereits eine hydrolytische Spaltung der Stärke. Ihr Vorkommen im serösen Speichel korreliert gut mit den immunhistochemischen Untersuchungen (Kraus und Mestecky 1971, Korsrud und Brandtzaeg 1982), die Amylase nur in den serösen Acinuszellen sowohl rein seröser (Glandula parotis) als auch gemischter (Glandula submandibularis) Speicheldrüsen nachweisen konnten.

Die Speichelsekretion steht in Wechselwirkung mit dem Zahnsystem (ausführl. Literaturhinweis bei Seifert 1966). Die Schmelzhärte und -mineralisation ist abhängig vom Elektrolytgehalt (Kalium, Phosphat, Fluor) des Speichels. Zusätzlich bietet der Speichelfluß die Möglichkeit zur Selbstreinigung der Mundhöhle und zum schnelleren Abbau von Kohlehydraten (s.o.). Verminderte Speichelproduktion führt so zu erhöhter Kariesanfälligkeit.

Die Rolle des Speichels bei der Infektionsabwehr beruht auf dem Vorhandensein anorganischer (Halogene, Metalle, Rhodanid)

als auch organischer (Lysozym, Laktoferrin, Immunglobuline) Stoffe.

Immunglobulin A, welches im Serum nur einen geringen Anteil der Immunglobuline darstellt, stellt im Speichel den Hauptanteil. Über die genaue Synthese dieses Speichel-IgA herrscht noch Unklarheit. Eine reine Transportfunktion der Epithelien scheidet aus, da sich das Speichel-IgA in einer Reihe von physikalischen und strukturellen Eigenschaften vom Serum-IgA unterscheidet (Eichner et al. 1975). Immunhistochemisch fanden Kraus und Mestecky (1971) Immunglobulin A in den apikalen Zellanteilen der Streifenstücke, während Korsrud und Brandtzaeg (1982) in mehreren Untersuchungen IgA sowohl in serösen Acinuszellen als auch in Schalt- und Streifenstücken nachweisen konnten. Im Gegensatz zur spezifischen Abwehr durch Immunglobuline, die gegen ein bestimmtes Antigen gerichtet sind, existiert auch ein unspezifisches Abwehrsystem im Speichel. Eine wichtige Aufgabe erfüllen dabei Laktoferrin und Lysozym.

Die bakterizide Wirkung von Laktoferrin wird auf die Eisenbindungskapazität zurückgeführt. Immunhistochemisch wurde Laktoferrin sowohl in den Acinuszellen als auch in den Schaltstücken nachgewiesen (Reitamo et al. 1980, Caselitz et al. 1981, Korsrud und Brandtzaeg 1982). Caselitz et al. (1981) stellten zusätzlich eine verstärkte Reaktion im chronisch entzündeten Speicheldrüsengewebe (Glandula parotis) fest.

Lysozym:

Lysozym ist eine basische Polypeptidkette, die aus 129 Aminosäuren besteht und ein Molekulargewicht von 15000 besitzt. Im Rahmen der unspezifischen Abwehr greift es die Mukopeptidkomplexe der Bakterienwände an. Mit Hilfe immunhistochemischer Methoden wurde das Vorkommen von Lysozym im menschlichen Körper häufig untersucht. Als Teil des unspezifischen Abwehrsystems wurde Lysozym in Makrophagen (Klockars und Reitamo 1975, Mason und Taylor 1975, Pinkus und Said 1977, Nash 1982, Permanetter und Meister 1984) und in

Granulozyten gefunden (Caselitz et al. 1981, Seifert 1982, Permanetter und Meister 1984). Umfassende Untersuchungen (Mason und Taylor 1975, Klockars und Reitamo 1975, Pinkus und Said 1977, Permanetter und Meister 1984) wiesen Lysozym in der Lunge (seröse Bronchialdrüsen), im Magen (Antrum- und Kardiabereich), im Duodenum (Brunner'sche Drüsen), im Dünndarm (Paneth'sche Körperzellen), im Pankreas (exokriner Anteil), in der Leber (Kupffer'sche Sternzellen), in der Niere (proximaler Tubulus), im Knorpelgewebe des Bronchialbaumes, in Tränendrüsen und in Speicheldrüsen nach. Über das Vorkommen in normalem Speicheldrüsengewebe liegen unterschiedliche Berichte vor (Kraus und Mestecky 1971, Mason und Taylor 1975, Klockars und Reitamo 1975, Pinkus und Said 1977). Neuere Untersuchungen fanden Lysozym in den serösen Acinuszellen (Caselitz et al. 1981, Permanetter und Meister 1984), als auch in den Schaltstücken (Caselitz et al. 1981, Korsrud und Brandtzaeg 1982). Im Gegensatz zu den Laktoferrinuntersuchungen fanden Caselitz et al. (1981) eine Abnahme der positiven Reaktionen für Lysozym im chronisch entzündeten Speicheldrüsengewebe. In unserer Untersuchung fand sich eine stark positive Reaktion in den serösen Acinuszellen und eine mäßig positive in den Schaltstücken sowohl rein seröser (Glandula parotis), als auch gemischter (Glandula submandibularis) Speicheldrüsen. Wie bereits früher beschrieben, fiel auch bei unseren Untersuchungen die teilweise stark unterschiedliche Reaktion der Acinuszellen auf. Der Ursprung des gefundenen Lysozyms läßt sich auf Grund alleiniger morphologischer Untersuchungen nicht feststellen. Das Vorkommen in den Acinuszellen könnte für eine dortige Produktion sprechen. Die positive Reaktion der Schaltstücke dagegen könnte ebenso als ein Absorptionsphänomen gedeutet werden. Unter der Annahme, daß Lysozym in den Acinuszellen gebildet wird, wäre ein Erklärungsansatz für die unterschiedliche Reaktionsstärke im Funktionszustand der serösen Endstücke zu sehen. Einerseits weisen die Speicheldrüsen eine Circadianrhythmik auf (Albegger et al. 1975), die zur Erklärung

unterschiedlich starker Reaktionen bei unterschiedlichen Präparaten dienen könnte. Andererseits stellen Pharmaka, besonders Parasympathomimetika, einen starken Reiz für die vermehrte Abgabe von Lysozym im Speichel dar (Eichner et al. 1975). Da Parasympatholytika in der Narkosetechnik breiten Einsatz haben und es sich bei den untersuchten Präparaten um Biopsiematerial handelte, ist eine Hemmung der Lysozymproduktion einzelner Acinuszellgruppen zu diskutieren. Je nach Empfindlichkeit der einzelnen Acinuszellen und Konzentration der zugeführten Medikamente am Ort wäre dann eine unterschiedliche immunhistochemische Reaktion für Lysozym denkbar.

Alpha₁-Antichymotrypsin:

Alpha₁-Antichymotrypsin ist eine physiologisch vorkommende Polypeptidkette mit einem Molekulargewicht von 64000. Schultze et al. konnten es 1962 isolieren. 1965 wiesen Heimbürger und Haupt nach, daß dieses Protein Chymotrypsin inhibiert (Burtin und Grabar 1967). Alpha₁-Antichymotrypsin stellt einen wichtigen Schutzfaktor im Gewebe gegen Proteolyse dar. Immunhistochemische Untersuchungen wiesen Alpha₁-Antichymotrypsin in Makrophagen, in den Kupffer'schen Sternzellen der Leber, in Milchgängen der Brustdrüse, in der Niere, im exokrinen Anteil des Pankreas, in Magendrüsen, in serösen Bronchialdrüsen und in den Brunner'schen Drüsen des Duodenums nach (Motoi et al. 1980, Permanetter und Meister 1984). Permanetter und Meister (1984) fanden keine positive Reaktion in den serösen Endstücken der Glandula submandibularis. Bei den vorliegenden Untersuchungen zeigten erwartungsgemäß Acinuszellen wie auch Schalt- und Streifenstücke keine Reaktion für Alpha₁-Antichymotrypsin.

Alpha₁-Antitrypsin:

Bei Alpha₁-Antitrypsin handelt es sich um eine Polypeptidkette, die aus 394 Aminosäuren besteht. Ihr Molekulargewicht beträgt 51000. Alpha₁-Antitrypsin besitzt ebenfalls eine Schutzfunktion für das Gewebe gegenüber Selbstzerstö-

rung durch Proteasen. Mittels immunhistochemischer Methoden konnte es in Makrophagen und neutrophilen Granulozyten nachgewiesen werden (Motoi et al. 1980, Isaacson et al. 1981). Untersuchungen über das Vorkommen in normalem Speicheldrüsengewebe liegen bisher noch nicht vor. In unseren Untersuchungen fanden sich keine positiven Reaktionen für Alpha₁-Antitrypsin im gesunden Speicheldrüsengewebe.

3. Die benigne lymphoepitheliale Läsion der menschlichen Speicheldrüsen

3.1. Einleitung:

Der Begriff der benignen lymphoepithelialen Läsion wurde erstmals von Godwin 1952 eingeführt und auch bei der histologischen Einteilung von Speicheldrüsentumoren durch die WHO benutzt (Thackray und Sobin 1972). Neben dem Befallen sein von nur einer der großen Speicheldrüsen, gibt es auch eine gewisse Anzahl von Fällen, bei der diese Erkrankung generalisiert auftritt und alle Speichel- und Tränendrüsen befallen kann. Dies führt dann klinisch zum Vollbild des Sjögren Syndroms. Nahezu synonyme Bezeichnungen für die benigne lymphoepitheliale Läsion sind demnach "myoepitheliale Sialadenitis (Sjögren Syndrom)", "Autoimmun-Sialadenopathie", oder "Mikulicz Krankheit".

Die benigne lymphoepitheliale Läsion gehört zu den seltenen tumorbildenden Erkrankungen der Speicheldrüsen. Sie tritt bevorzugt beim weiblichen Geschlecht mit einem Altersgipfel im 7. Lebensjahrzehnt auf (Seifert und Donath 1976). Aufgrund morphologischer, serologischer und klinischer Befunde wird diese Erkrankung als eine Autoimmunreaktion des Körpers angesehen (Donath und Seifert 1972). Dabei kommt es zunächst zu einer Antikörper-Reaktion gegen nucleäre Antigene der Schaltstückepithelien, weiter zu einer zunehmenden Lymphocyteninfiltration und Destruktion der Schaltstückepithelien mit gleichzeitiger Proliferation von Myoepithelzellen. Schließlich führt dies zum Endzustand einer vorwiegend lymphocytären Sialadenitis mit weitgehender Zerstörung der Drüsenacini und Umwandlung der Schaltstückepithelien zu charakteristischen myoepithelialen Zellinseln.

In seltenen Fällen wird auch über die Entstehung von malignen Tumoren (Nagao et al. 1983, Kott et al. 1984), vor allem Lymphome (Lennert et al. 1979), innerhalb der benignen lymphoepithelialen Läsion berichtet.

Abb.8: Schematische Darstellung der Entwicklung von Myoepithelinseln (nach Seifert und Donath 1976)



- 1 = Entstehung einer Antikörper-Reaktion gegen nucleäre Antigene der Schaltstückepithelien.
- 2 = Lymphocyteninfiltration.
- 3 = Destruktion der Schaltstückepithelien und Proliferation der Myoepithelzellen.
- 4 = Weitere Lymphocyteninfiltration und Hyalinbildung innerhalb der Myoepithelinseln.

3.2. makroskopische Pathologie:

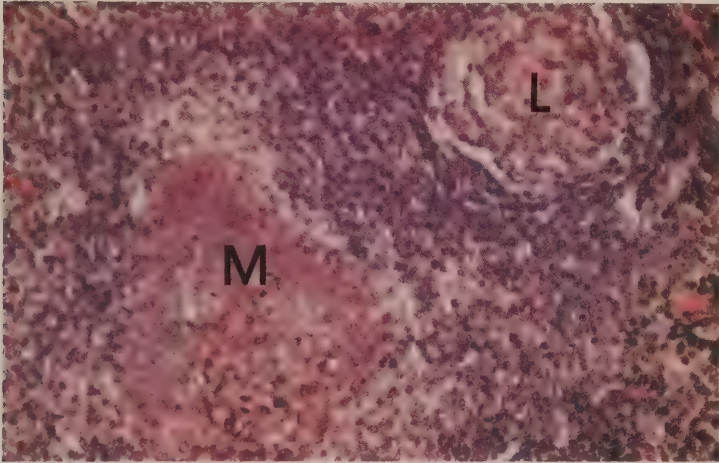
Makroskopisch imponiert die benigne lymphoepitheliale Läsion als eine tumoröse Wucherung, die von einer feinen bindegewebigen Kapsel umgeben ist. In einigen Fällen zeigen sich auf der Schnittfläche multiple kleine Cysten (Nagao et al. 1983).

3.3. mikroskopische Pathologie:

Histologisch sieht man eine Unterteilung in einzelne Läppchen, die durch feine Bindegewebszüge voneinander abgegrenzt sind.

Charakteristisch für die benigne lymphoepitheliale Läsion sind die myoepithelialen Zellinseln und die massive lymphozytäre Infiltration des Drüsengewebes. Die Zellinfiltrate bestehen aus T- und B-Lymphozyten, sowie aus Plasmazellen (Fox et al. 1982, Adamson 1983). Mit zunehmender Erkrankungsdauer zerstören sie die normale Drüsenarchitektur und beherrschen dann das histologische Bild. Gelegentlich finden sich dann auch Lymphfollikel mit Reaktionszentren.

Abb.9: Benigne lymphoepitheliale Läsion.
Typische Myoepithelinsel (M) mit teilweise noch
erkennbaren Gangstrukturen. Im lymphatischen In-
filtrat Ausbildung eines Lymphfollikels (L).
Paraffinschnitt, HE (Vergr. 230fach)

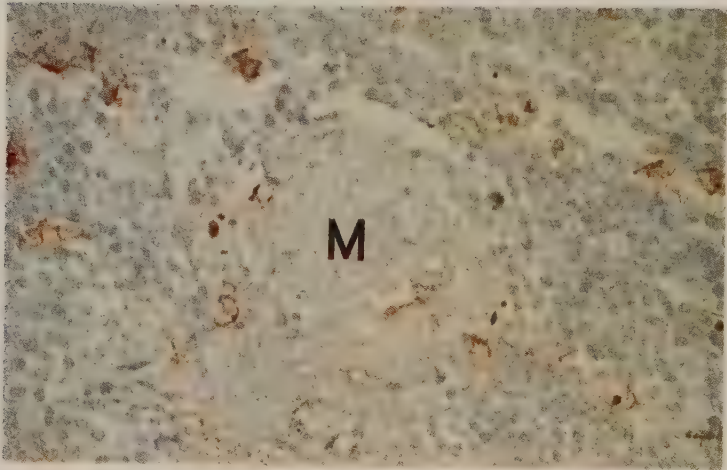


3.4. Immunhistochemie:

Es wurden 9 Speicheldrüsen mit Veränderungen entsprechend einer benignen lymphoepithelialen Läsion auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht.

Je nach Schweregrad der lymphatischen Infiltration fanden sich positive Reaktionen in noch erhaltenen Acinuszellen oder Schaltstückepithelien. Insgesamt waren die positiven Reaktionen aber schwächer ausgeprägt als im gesunden Speicheldrüsenngewebe. Einzelne Makrophagen zeigten ebenfalls positive Reaktionen für Lysozym, wie auch für Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin. Keines der drei Enzyme konnte im lymphozytären Infiltrat nachgewiesen werden. Die Myoepithelinseln zeigten ebenfalls keine positiven Reaktionen für eines der drei untersuchten Enzyme.

Abb.10: Benigne lymphoepitheliale Läsion.
Innerhalb der Myoepithelinsel (M) kein Nachweis
von Lysozym. Innerhalb des lymphatischen Infil-
trats vereinzelt positive Makrophagen.
Paraffinschnitt, Kernfärbung mit Hämalaun.
(Vergr. 370fach)



4.1. Epitheliale Tumoren der menschlichen Speicheldrüsen

4.1. Einleitung:

Obwohl die Speicheldrüsentumoren nur einen sehr kleinen Anteil (etwa 1% s. Seifert 1966) am Gesamtkollektiv der Tumoren darstellen, sind sie auf Grund ihrer morphologischen Vielfältigkeit immer wieder Grundlage wissenschaftlicher Untersuchungen. Nach der internationalen Klassifikation der WHO (Thackray und Sobin 1972) lassen sich vier Hauptgruppen unterscheiden:

- Adenome
- Mucoepidermoidtumoren
- Acinuszelltumoren
- Carcinome

In den Jahren 1978 - 1983 kamen insgesamt 253 epitheliale Speicheldrüsentumoren in der Außenstelle Großhadern des Pathologischen Instituts der Universität München zur Untersuchung, wobei zwischen 1978 und 1980 nur 85 Fälle diagnostiziert wurden, da sich zu dieser Zeit die einzelnen Abteilungen des Klinikums Großhadern noch im Aufbau befanden. Von den 253 Gesamtfällen entfielen auf die benignen Adenome 206 Fälle (81,4%) auf maligne Tumoren (Mucoepidermoidtumoren, Acinuszelltumoren, Carcinome) 47 Fälle (18,6%).

Die Speicheldrüsen gehören bezüglich der Gewebsregeneration zu den stabilen Geweben. Dies bedeutet, daß es sich um langlebige Zellsysteme handelt, die unter physiologischen Bedingungen nur einen geringen Zellverlust aufweisen und somit eine geringe Regenerationsrate besitzen.

Unter pathologischen Bedingungen besitzt die Grenzzone zwischen Schalt- und Streifenstücken eine besonders hohe regenerationspotenz (Seifert und Donath 1976). Für die Histogenese vieler Tumoren spielt diese Zone eine wichtige Rolle. Eversole stellte 1971 eine "Zwei-Zellen-Theorie" für die Entstehung von Speicheldrüsentumoren auf. Den Ort des möglichen Tumoraussprungs sieht er in den Regenerationszonen einerseits im Bereich der Schaltstücke ("intercalated duct

reserve cell") und andererseits im Bereich der distalen Ausführungsgänge ("excretory duct reserve cell"). Je nach den in den Tumoren vorkommenden Zellarten ordnet er den Ort der Tumorentstehung einer der beiden Regenerationszonen zu. Durch eine neoplastische Transformation dieser Regenerationszellen soll es dann zur eigentlichen Tumorentstehung kommen (s. auch Pierce 1974).

Tab.1: Verteilung der epithelialen Speicheldrüsentumoren (n = 253). Klassifikation nach WHO:

Tumorart	Anzahl der Fälle	rel. Anzahl in %
ADENOME:		
pleomorphe Adenome	133	52,6
monomorphe Adenome	73	28,8
Adenolymphome	59	23,3
Onkocyto	2	0,8
sonstige monomorphe Adenome	12	4,7
MUCOEPIDERMOIDTUMOREN	3	1,2
ACINUSZELLTUMOREN	9	3,6
CARCINOME:		
adenoid-cystische Carcinome	12	4,7
Adenocarcinome	4	1,6
Plattenepithelcarcinome	3	1,2
Undifferenzierte Carcinome	10	3,9
Carcinome in pleomorphen Adenomen	6	2,4
Gesamtanzahl	253	100,0

Den Myoepithelzellen kommt bei der Histogenese von Speicheldrüsentumoren ein besonderer Stellenwert zu. Die Artenvielfalt der Speicheldrüsentumoren, im Vergleich zu Pankreastumoren, erscheint erst durch die Anwesenheit dieser Myoepithelzellen, die im normalen Pankreasgewebe nicht vorhanden sind, erklärbar (Hübner et al. 1970).

4.2. Adenome

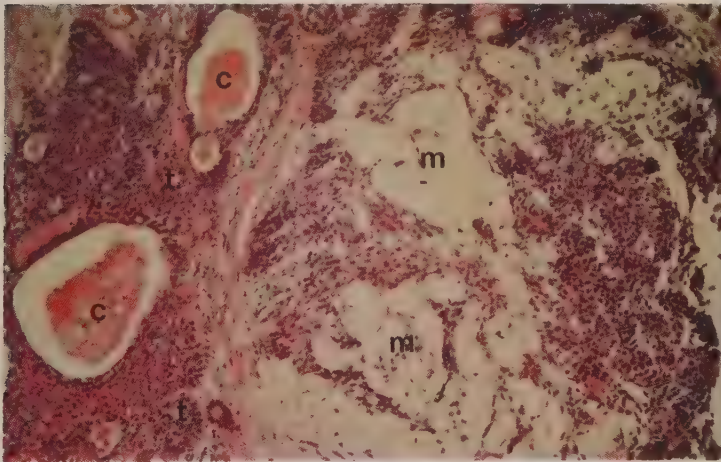
4.2.1. pleomorphes Adenom

Das pleomorphe Adenom ist die häufigste Geschwulst der Speicheldrüsen. Bei den 253 untersuchten Tumoren handelte es sich in 133 Fällen (85 weibliche und 48 männliche Patienten) um ein pleomorphes Adenom, entsprechend einem Anteil von 52,6%. Das mittlere Alter der Patienten bei Diagnosestellung war 47 Jahre.

Makroskopisch besitzt das pleomorphe Adenom meist eine Kapsel. Die Schnittfläche bietet ein buntes Bild mit knottigen Strukturen, Cysten und Blutungen in umgebenden weichen Geschwulstabschnitten.

Abb.11: Pleomorphes Adenom.

Typisches "buntes Bild" mit tubulär (t) und trabekulär gelagerten Epithelien, myxomatösem (m) und chondroidem (c) Stroma. Paraffinschnitt, HE (Vergr. 100fach)



Histologisch ist gegenüber den monomorphen Adenomen das Vorkommen verschiedener Zelltypen und deren fließender Übergang in das Stroma charakteristisch. Gang- und Myoepithelzellen,

sowie epidermoide Zellen gehören zu den häufigsten Zelldifferenzierungen im pleomorphen Adenom (Seifert und Donath 1976). Sie sind tubulär, trabekulär oder solide gelagert. Streifenstückzellen, verhornendes Plattenepithel, Onkocyten, Basalzellen sowie Talgdrüsenzellen sind selten.

Das Stroma der pleomorphen Adenome zeigt ein ebenso buntes Bild. Typisch ist das mucoide (myxomatöse) Stroma, das mit hyalinen oder fibrösen Bezirken wechselt. Selten kommt es zu einer chondroiden oder ossären Differenzierung.

Das charakteristische Nebeneinander von epithelialen und mesenchym- oder knorpelähnlichen Anteilen führte zur Diskussion, ob diese Tumorart auch aus mesenchymalen Keimblattanteilen entstanden sein könnte (Welsh et al. 1968). Zur Zeit herrscht jedoch die Meinung, daß es sich beim früher sogenannten "Misch tumor" um einen rein epithelialen Tumor handelt, in dem die Myoepithelzellen eine entscheidende Rolle spielen (Hübner et al. 1971). Gemäß der "Zwei-Zellen-Theorie" von Eversole, nimmt man jetzt den Regenerationsbereich der Schaltstücke als Ausgangspunkt für das Tumorstadium an (Regezi und Batsakis 1977, Batsakis 1980, Iizuka 1981). Das pleomorphe Adenom soll hierbei eine Mittelstellung zwischen den extremen Differenzierungsformen monomorphes Adenom und Myoepitheliom einnehmen, je nach der in der transformierten Tumorzelle enthaltenen Geninformation (Dardick et al. 1982).

Untersuchungsergebnisse:

Es wurden 13 pleomorphe Adenome auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht.

Ein einziges Präparat zeigte eine positive Reaktion für Lysozym. Ein einziges Präparat zeigte eine positive Reaktion für Lysozym. Hierbei waren die tubulär gelagerten Epithelien mäßig positiv, das knorpelartige Stroma zeigte eine ausgeprägte Reaktion. Alle anderen Präparate waren negativ.

Tab.2: Nachweis von Lysozym in pleomorphen Adenomen

untersuchtes Enzym	Anzahl	LYSOZYM		
Reaktionsstärke	n	-	+	++
mucoides Stroma	11	11	-	-
chondroid/ossäres Stroma	3	2	-	1
adenomatöse Epithelien in tubulärer/trabekulärer La- gerung	12	11	1	-
solid gelagerte Epithelien	7	7	-	-
Material in Drüsenlumina	12	11	1	-

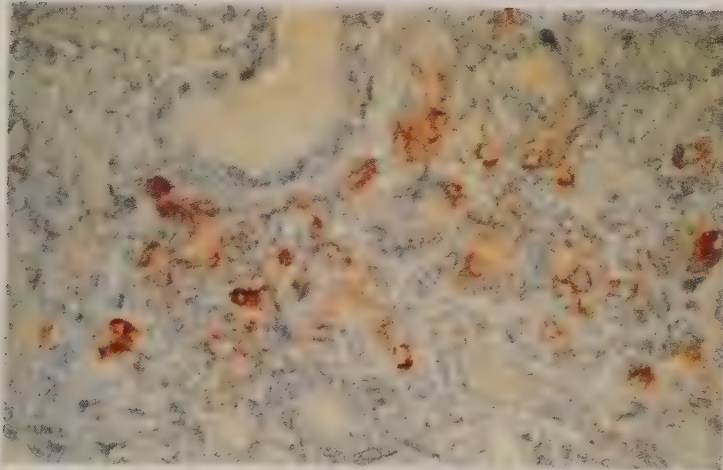
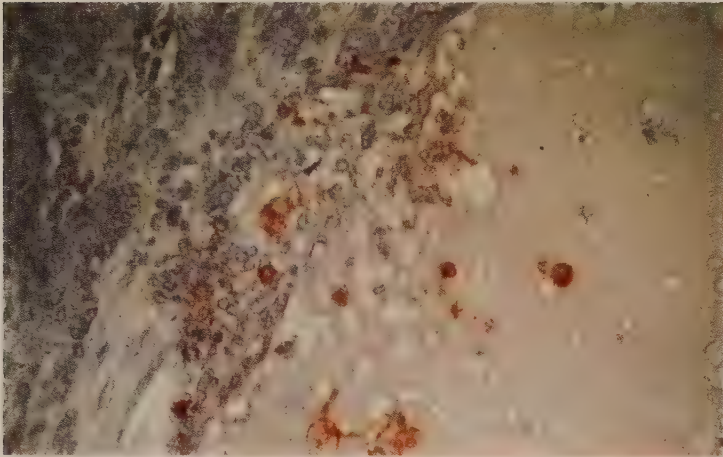


Abb.12: Pleomorphes Adenom.

Vereinzelte positive Reaktionen für Lysozym in
tubulär/trabekulär gelagerten Epithelien.
Paraffinschnitt, Kernfärbung mit Hämalaun.
(Vergr. 370fach)

Abb.13: Pleomorphes Adenom.

Nachweis von Lysozym in chondroid differenzierten Zellen eines pleomorphen Adenoms.
Paraffinschnitt, Kernfärbung mit Hämalaun.
(Vergr. 230fach)



Tab.3: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in pleomorphen Adenomen

untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl n	ALPHA1-ANTI- CHYMOTRYPSIN			ALPHA1-ANTI- TRYPSIN		
		-	+	++	-	+	++
mucoides Stroma	11	8	3	-	11	-	-
chondroid/ossäres Stroma	3	-	1	2	2	1	-
adenomatöse Epithelien in tubulärer/trabekulärer Lagerung	12	4	5	3	11	1	-
solid gelagerte Epithelien	7	6	1	-	7	-	-
Material in Drüsenlumina	12	2	2	8	11	1	-

Die Mehrzahl der Präparate zeigte im Bereich der tubulär und trabekulär gelagerten Epithelien eine mäßig positive Reaktion für Alpha₁-Antichymotrypsin, wobei die Reaktion

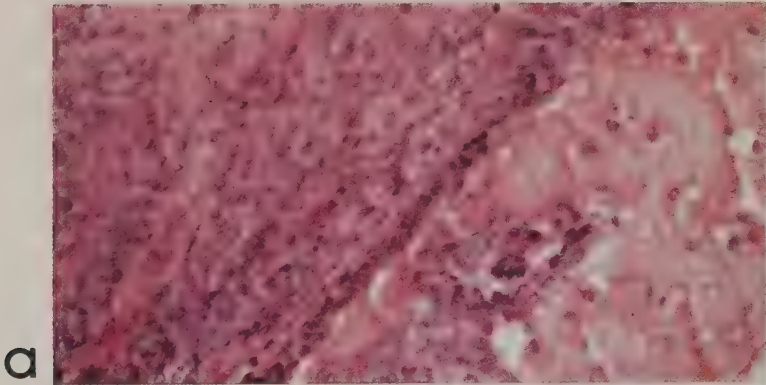
in Bereichen tubulärer Lagerung stärker als in jenen trabekulärer Lagerung war. Solide Bereiche waren mit einer Ausnahme negativ. Das knorpelartige Stroma zeigte eine deutlich stärkere Reaktion als das mucoide, welches nur in einzelnen Präparaten eine mäßig positive Reaktion aufwies.

Abb.14: Pleomorphes Adenom (a, b).

Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin im chondroiden Stroma eines pleomorphen Adenoms (b).
Paraffinschnitt

a) HE (Vergr. 230fach)

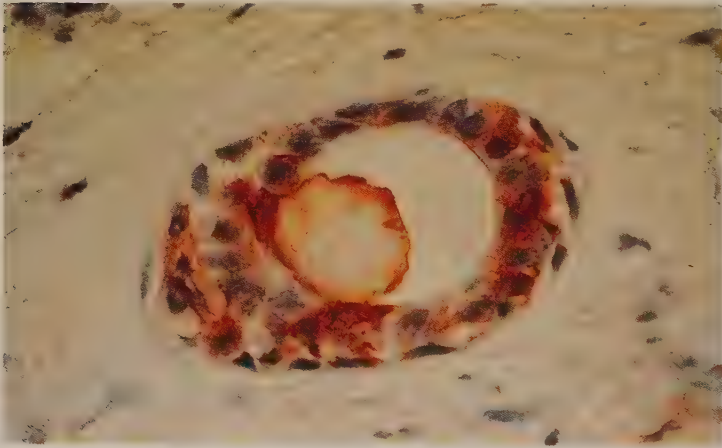
b) Kernfärbung mit Hämalaun
(Vergr.230fach)



Für Alpha₁-Antitrypsin war die Reaktion sehr schwach ausgeprägt. Nur in einem Präparat konnte eine mäßig positive Reaktion im chondroiden Stroma erkannt werden, in einem weiteren fand sich im Bereich von tubulär gelagerten Epithelien eine mäßige Reaktion.

Abb.15: Pleomorphes Adenom.

Starker Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin in tubulär/cystisch gelagerten Epithelien.
Paraffinschnitt, Kernfärbung mit Hämalaun.
(Verg. 600fach)



4.2.1. monomorphe Adenome

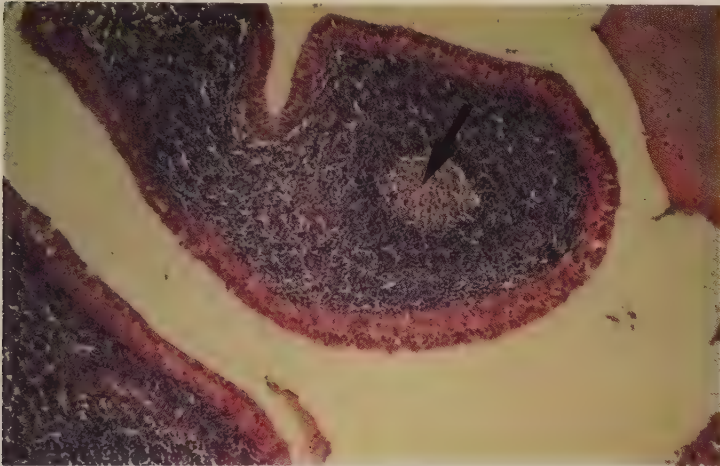
Adenolymphom:

Das Adenolymphom ist nach dem pleomorphen Adenom der zweithäufigste Speicheldrüsentumor. Unter den 253 Tumoren waren 59 (entsprechend 23,3%) Adenolymphome. Das mittlere Alter der Patienten lag bei 63 Jahren. In 42 Fällen waren männliche Patienten betroffen, in nur 17 Fällen weibliche Patienten.

Abb.16: Adenolymphom.

Übersicht. Im lymphoretikulären Stroma Ausbildung eines Lymphfollikels (Pfeil).

Paraffinschnitt, HE. (Vergr. 100fach)



Makroskopisch sind die Adenolymphome häufig von einer Kapsel umgeben. Die Schnittfläche ist von graubräunlicher Farbe und meist von kleinen Cysten durchsetzt. Mikroskopisch besteht der Tumor aus drüsigen, oft cystischen Strukturen, die von einem meist doppelreihigen Epithel umgeben sind. Die apikalen Zellen weisen ähnliche ultrastrukturelle Merkmale wie Onkozytomzellen auf. Die epithelial-drüsigen Strukturen sind von einem lymphoreticulären Stroma mit Lymphfollikeln umgeben.

Histogenetischer Ausgangspunkt des Adenolymphoms soll die Regenerationszone im Bereich der Schaltstücke sein (Eversole 1971). Kommt es während der Differenzierung in Richtung Streifenstücke zu einer neoplastischen Transformation, so könnte die Struktur eines Adenolymphoms entstehen. Auch eine Reihe von Beobachtungen an intraglandulären Parotislymphknoten führte zu der Auffassung, die Entstehung dieser Tumorgruppe von Streifenstücken abzuleiten (Kleinsasser et al. 1966).

Untersuchungsergebnisse:

10 Adenolymphome wurden jeweils auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht.

Tab.4: Nachweis von Lysozym in Adenolymphomen.

untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl n	LYSOZYM		
		-	+	++
lymphatisches Stroma	10	10	-	-
Epithelien	10	10	-	-
Material in Drüsenlumina	10	10	-	-

Der epitheliale Anteil der Präparate war durchwegs negativ für Lysozym. Im Stroma fanden sich positive Reaktionen in Granulozyten und Makrophagen. Der lymphatische Anteil war aber stets negativ.

Tab.5: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-antitrypsin in Adenolymphomen

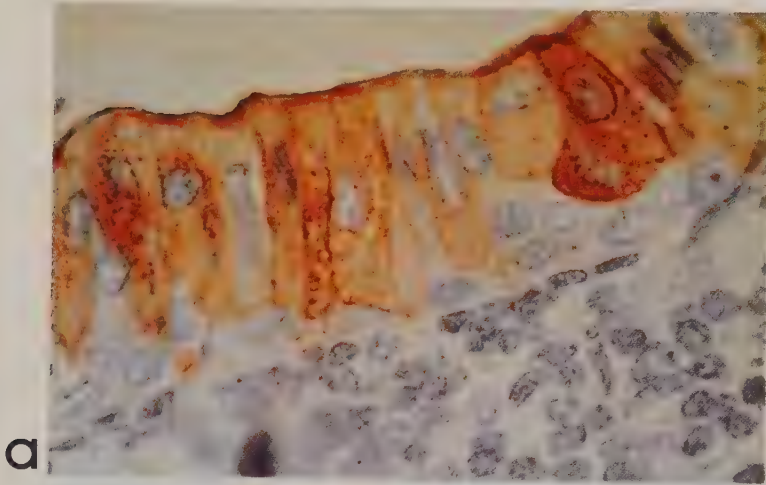
untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl n	ALPHA1-ANTI- CHYMOTRYPSIN			ALPHA1-ANTI- TRYPSIN		
		-	+	++	-	+	++
lymphatisches Stroma	10	10	-	-	10	-	-
Epithelien	10	-	6	4	1	3	6
Material in Drüsenlumina	10	-	-	10	1	9	-

Die Epithelien zeigten eine starke Reaktion sowohl für Alpha₁-Antichymotrypsin als auch für Alpha₁-Antitrypsin, wobei letztere intensiver ausgeprägt war. Auffallend war, daß die apikalen Epithelanteile stets deutlicher positiv reagierten als die basalen. Das in den cystischen Hohlräumen enthaltene Sekret war immer positiv, auch in einem

Fall, in dem keine sichere epitheliale Reaktion für Alpha₁-Antitrypsin vorhanden war. Das lymphatische Stroma war durchwegs negativ.

Abb.17: Adenolymphom.

Starker Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin im epithelialen Tumoranteil (a). Sehr starke Reaktion für Alpha₁-Antitrypsin mit apikaler Betonung ebenfalls in den Epithelien (b). Paraffinschnitt, Kernfärbung mit Hämalaun. (Vergr. a) und b) 950fach)



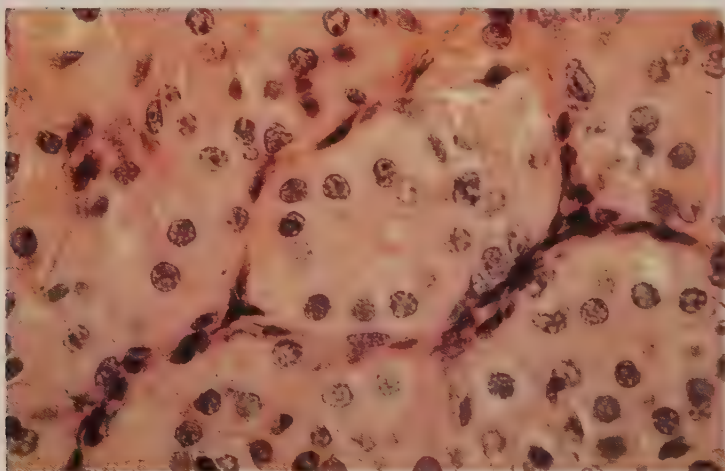
Onkocytom:

Das Onkocytom gehört zu den seltenen, aber typisch monomorphen Speicheldrüsentumoren. Bei 253 Speicheldrüsentumoren fanden sich nur zwei (entsprechend 0,8%) reine Onkocytome. Beide Patienten waren weiblich, ihr Alter bei Diagnosestellung betrug 51 und 71 Jahre.

Die gut abgekapselten Tumoren besitzen eine fleischige Konsistenz. Ihre etwas gelappte Schnittfläche ist von braun-gelber Farbe. Mikroskopisch besteht der Tumor aus typischen eosinophilen Epithelien (Onkocyten), die meist solide gelagert sind.

Abb.18: Onkocytom.

Tumorbereich mit typischen eosinophilen Epithelien (Onkocyten).
Paraffinschnitt, HE (Vergr.370fach)



Onkocyten sind mit zunehmendem Alter eine immer häufigere Erscheinung im Gangsystem der Speicheldrüsen. Dies führte auch zur Annahme, daß Onkocytome aus den physiologisch vorkommenden Onkocyten entstehen könnten. Zur Zeit wird diese Tumorart aber aufgrund ihrer morphologischen Ähnlichkeit mit Gangepithelien von Streifenstücken abgeleitet (Seifert

und Donath 1976). Ebenso wie bei den Adenolymphomen soll dabei die Regenerationszone im Schaltstückbereich Ausgangspunkt des Tumorwachstums sein (Eversole 1971, Regezi und Batsakis 1977). Zusätzlich ist noch zu erwähnen, daß onkocytäre Zelldifferenzierungen auch in anderen Speicheldrüsentumoren auftreten, so in pleomorphen Adenomen oder Carcinomen (Seifert und Donath 1976).

Untersuchungsergebnisse:

Die zwei Onkocytome wurden jeweils auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht. Zusätzlich wurden onkocytär umgewandelte Bereiche eines pleomorphen Adenoms ausgewertet.

Tab.6: Nachweis von Lysozym in Onkocytomen

untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl n	LYSOZYM		
		-	+	++
onkocytäre Epithelien in Onkozytomen	2	2	-	-
onkocytäre Epithelien im pleomorphen Adenom	1	1	-	-

Die onkocytären Epithelien waren sowohl in den beiden Onkocytomen, wie auch in einem pleomorphen Adenom negativ für Lysozym.

Tab.7: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in Onkocytomen

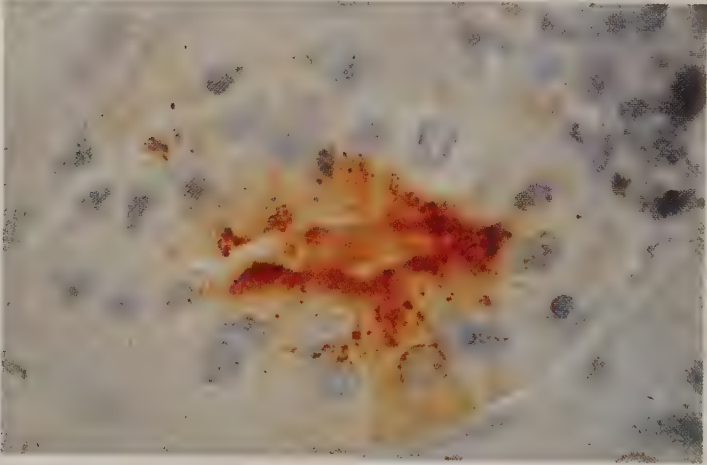
untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl n	ALPHA ₁ -ANTI-CHYMOTRYPSIN			ALPHA ₁ -ANTI-TRYPSIN		
		-	+	++	-	+	++
onkocytäre Epithelien in Onkocytomen	2	-	2	-	-	2	-
onkocytäre Epithelien im pleomorphen Adenom	1	-	-	1	1	-	-

Abb.19: Onkocytom.

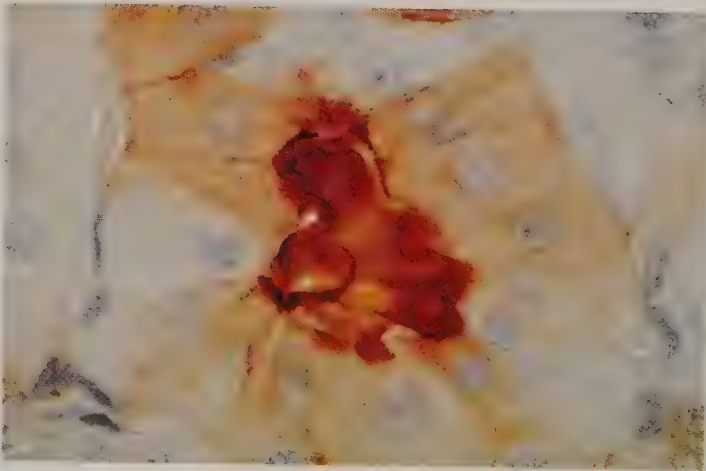
Schwache Reaktion mit apikaler Betonung für Alpha₁-Antichymotrypsin (a), stärkere Reaktion für Alpha₁-Antitrypsin (b) im Cytoplasma der onkocytären Epithelien.

Paraffinschnitt, Kernfärbung mit Hämalaun
(Vergr. a) und b) 950fach)

a



b



Die Epithelien der Onkocyptome zeigten schwache Reaktionen für Alpha₁-Antichymotrypsin und mäßige für Alpha₁-Antitrypsin. Im onkocytär umgewandelten Bereich eines pleomorphen Adenoms war die Reaktion für Alpha₁-Antichymotrypsin zwar stark ausgeprägt, jedoch konnte im selben Gebiet Alpha₁-Antitrypsin nicht nachgewiesen werden.

sonstige monomorphe Adenome:

Die sonstigen monomorphen Adenome stellen eine heterogene Tumorgruppe dar. Gekennzeichnet sind sie durch eine jeweils einheitliche Zellpopulation und durch das Fehlen von myxomatösem oder chondroidem Stroma. Häufigste Vertreter dieser Gruppe sind das Speicheldrangadenom in trabekulärer, tubulärer oder cystischer Epithelanordnung und das Basalzelladenom (Seifert und Schulz 1979). Eine genaue Einteilung in diese beiden Formen bereitet öfters Schwierigkeiten, da häufig Übergangsformen vorkommen. Sehr seltene monomorphe Adenome wie das hellzellige Adenom, das Talgdrüsenadenom und das schleimbildende Adenom können hiervon noch unterschieden werden. Unter den 253 Speicheldrüsentumoren fanden sich 12 (entsprechend 4,7%) aus der Gruppe der sonstigen monomorphen Adenome. Das mittlere Alter der ausschließlich weiblichen Patienten lag bei 64 Jahren.

Makroskopisch besitzen diese Tumoren meist eine Kapsel und weisen eine braune bis gelbe Schnittfläche auf. Histologisch zeigt sich bei den Speicheldrangadenomen ein meist mehrreihiges Gangepithel in tubulärer, trabekulärer Anordnung, das von einem spärlichen, aus lockerem Bindegewebe aufgebauten Stroma umgeben ist. Reine Basalzelladenome sind aus solide angeordneten Basalzellformationen aufgebaut. Diese Zellinseln sind unterschiedlich groß und nach außen durch eine basalmembranartige Substanz zum Stroma abgegrenzt. Das bindegewebige Stroma ist meistens ausgeprägter entwickelt als bei Speicheldrangadenomen.

Aufgrund ultrastruktureller Untersuchungen wird vermutet, daß die Myoepithelien bei der Entstehung dieser Tumorgruppen, wenn überhaupt, nur eine untergeordnete Rolle spielen

(Hübner et al. 1971, Chaudhry et al. 1983). Der Tumorsprung wird auch hier in einer noch undifferenzierten Reservezelle im Bereich der Schaltstücke gesucht (Eversole 1971, Batsakis 1980, Chaudhry et al. 1983).

Untersuchungsergebnisse:

In zehn Tumoren dieser Gruppe wurde versucht Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin nachzuweisen.

Tab.8: Nachweis von Lysozym in den sonstigen monomorphen Adenomen

untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl n	LYSOZYM		
		-	+	++
tub./cyst. angeordnete Epithelien	7	7	-	-
trabekulär angeordnete Epithelien	7	7	-	-
solide angeordnete Epithelien	6	6	-	-
umgebendes Stroma	10	10	-	-

In allen monomorphen Adenomen dieser Gruppe konnte Lysozym weder im epithelialen Tumoranteil, noch im Stroma nachgewiesen werden.

Tab.9: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in den sonstigen monomorphen Adenomen

untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl n	ALPHA1-ANTI-CHYMOTRYPSIN			ALPHA1-ANTI-TRYPsin		
		-	+	++	-	+	++
tub./cyst. angeordnete Epithelien	7	1	4	2	7	-	-
trabekulär angeordnete Epithelien	7	5	2	-	7	-	-
solide angeordnete Epithelien	6	6	-	-	6	-	-
umgebendes Stroma	10	8	2	-	10	-	-

Die epithelialen Tumoranteile waren in Bereichen vorwiegend tubulär/cystischer Anordnung mäßig positiv für Alpha₁-Antichymotrypsin. Die Reaktion für Alpha₁-Antitrypsin konnte nur sehr vereinzelt in diesen Bezirken gesehen und deshalb nicht als eindeutig positiv gewertet werden.

Abb.20: Gangadenom.

Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin in trabekulär (tr) gelagerten Epithelien. Deutlich stärkere Reaktion in einem tubulär/cystisch (tub) gelagerten Bereich.

Paraffinschnitt a) HE (Vergr. 370fach)

b) Kernfärbung mit Hämalaun
(Vergr.600fach)

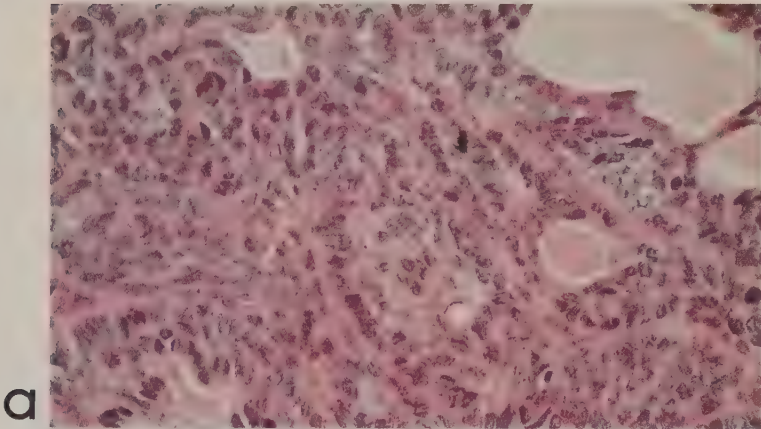
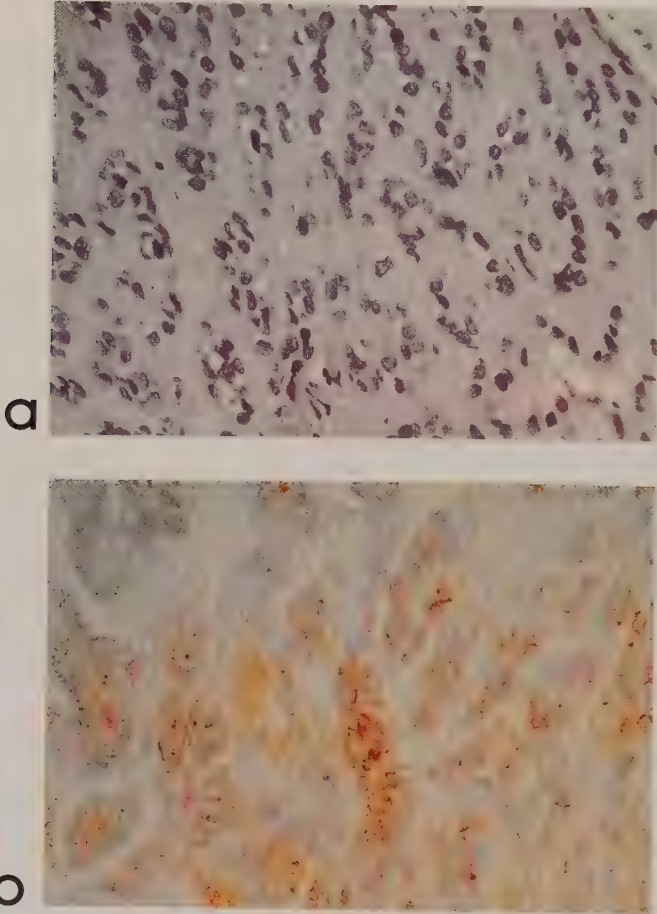


Abb.21: Basalzelladenom.

Mäßig starker Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin
im epithelialen Tumoranteil (b).¹

Paraffinschnitt a) HE (Vergr. 370fach)

b) Kernfärbung mit Hämalaun
(Vergr. 370fach)



Trabekuläre Tumorbereiche waren nur sehr schwach positiv für Alpha₁-Antichymotrypsin und negativ für Alpha₁-Antitrypsin. In den soliden Tumorbereichen konnte keines der beiden Enzyme nachgewiesen werden.

4.3. Mucoepidermoidtumor

Die Mucoepidermoidtumoren stellen eine Gruppe potentiell maligner Neoplasien dar. Unter den 253 Speicheldrüsentumoren fanden sich 3 (entsprechend 1,2%) Mucoepidermoidtumoren. Das mittlere Alter der ausschließlich männlichen Patienten lag bei 43 Jahren, wobei die Altersspanne sehr groß war (26 - 73 Jahre).

Makroskopisch sind diese Tumoren teils abgekapselt, teils unscharf begrenzt. Die Schnittfläche bietet ein buntes Bild mit soliden Bereichen, die von Cysten, Blutungen oder Nekrosen durchsetzt sind. Histologisch sind die Tumoren aus zwei bis drei Zellformen aufgebaut. Verschleimende Becherzellen wechseln mit epidermoiden Stachelzellverbänden, seltener findet man verhornende Plattenepithelbezirke. Eine bessere Prognose besitzen Tumoren ohne invasives Wachstum und reichlich entwickelten Becherzellen, die schleimgefüllte Cysten bilden. Überwiegen epidermoide Anteile und besteht invasives Wachstum, so muß mit schlechterer Prognose gerechnet werden.

Abb.22: Mucoepidermoidtumor.
Übersicht. Typischer Wechsel zwischen epidermoiden Stachelzellverbänden und verschleimenden Becherzellen.
Paraffinschnitt, HE (Vergr. 100fach)



Da bekannt ist, daß in den größeren Ausführungsgängen der Speicheldrüsen Becherzellen und Epithelmetaplasien vorkommen, nimmt man diesen Bereich als Tumorausprung an. Neoplastische Transformation solcher Epithelmetaplasien könnte analog dem Bronchialcarcinom bei Rauchern zur Tumorentstehung führen (Seifer 1966, Regezi und Batsakis 1977). Andererseits könnten die Mucoepidermoidtumoren auch direkt durch neoplastische Transformation innerhalb der Regenerationzonen des Hauptausführungsgangsystems entstehen, weil diese Reservezellen die Potenz zur Differenzierung in Plattenepithelien und Becherzellen in sich tragen (Eversole 1971, Batsakis 1980).

Untersuchungsergebnisse:

In unseren Untersuchungen wurden drei Mucoepidermoidtumoren auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht.

Tab.10: Nachweis von Lysozym in Mucoepidermoidtumoren

untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl n	LYSOZYM		
		-	+	++
Epidermoidanteil	3	3	-	-
Muköser Anteil	3	3	-	-
Schleim	3	3	-	-

In keinem der drei Mucoepidermoidtumoren konnte Lysozym nachgewiesen werden. Sowohl der epidermoide Anteil als auch der muköse Anteil waren durchwegs negativ.

Tab.11: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in Mucöepidermoidtumoren

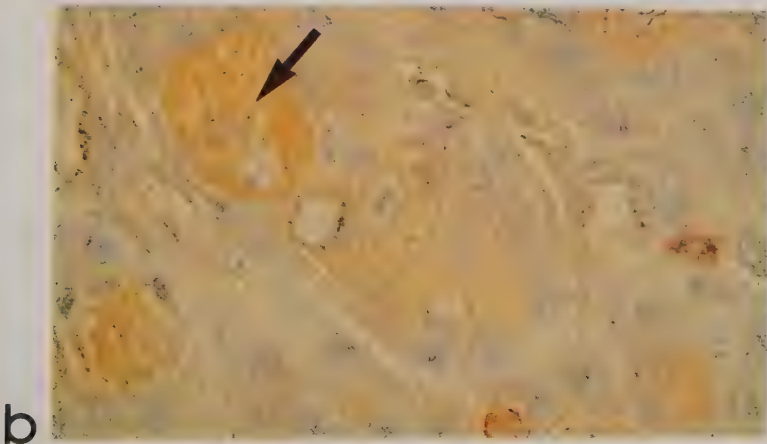
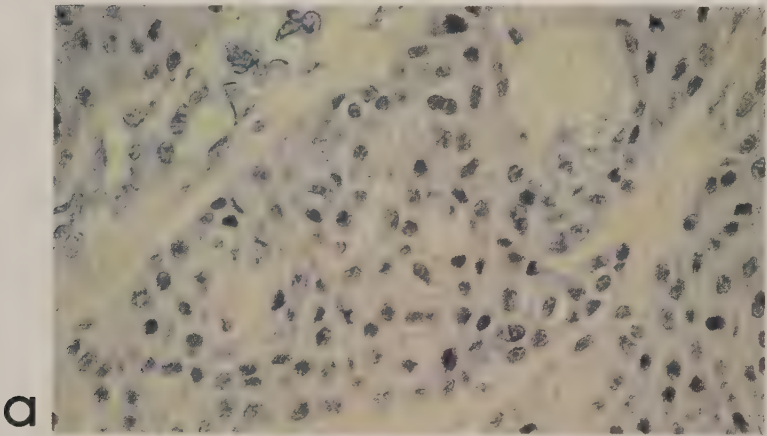
untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl n	ALPHA1-ANTI- CHYMOTRYPSIN			ALPHA1-ANTI- TRYPSIN		
		-	+	++	-	+	++
Epidermoidanteil	3	3	-	-	3	-	-
Muköser Anteil	3	1	2	-	2	1	-
Schleim	3	1	2	-	2	1	-

Abb.23: Mucoepidermoidtumor.

Positive Reaktion für Alpha₁-Antichymotrypsin nur im Becherzellanteil (Pfeil).

Paraffinschnitt, a) HE (Vergr. 370fach)

b) Kernfärbung mit Hämalaun
(Vergr. 600fach)



Für Alpha₁-Antichymotrypsin war in zwei dieser Tumoren eine mäßige Reaktion in mukösen Anteilen festzustellen. In keinem der Mucoepidermoidtumoren reagierte der epidermoide Anteil. Eine positive Reaktion für Alpha₁-Antitrypsin konnte nur im mukösen Teil eines dieser schon für Alpha₁-Antichymotrypsin positiven Tumoren gesehen werden.

4.4. Acinuszelltumor:

Die Acinuszelltumoren gehören zu den selteneren Tumorarten der Speicheldrüsen. Da sie zu Rezidiven und auch zu Metastasen neigen, werden sie zu den malignen Neubildungen gerechnet. Unter den insgesamt 253 Speicheldrüsentumoren fanden sich 9 Acinuszelltumoren (entsprechend 3,6%). Das mittlere Alter der bis auf eine Ausnahme durchwegs weiblichen Patienten lag bei 56 Jahren.

Makroskopisch weisen die Tumoren eine meist unvollständige Kapsel auf. Auf der Schnittfläche imponieren kleincystische Strukturen. Histologisch sind die Acinuszelltumoren aus basophilen Epithelien mit feingranulärem bis wabigem Cytoplasma aufgebaut. Die Bezeichnung Acinuszelltumoren soll die Ähnlichkeit des Tumors mit dem Aufbau seröser Drüsenacini zum Ausdruck bringen.

Ultrastrukturell besitzen die Tumorzellen Sekretgranula ähnlich jenen der normalen serösen Acinuszellen. Nur Acinuszellen und Schaltstückepithelien enthalten physiologisch solche Granula. Da beide Zellarten sich aus Reservzellen im Schaltstückbereich differenzieren, vermutet man auch dort die Quelle des Tumorwachstums (Eversole 1971, Regezi und Batsakis 1977).

Untersuchungsergebnisse:

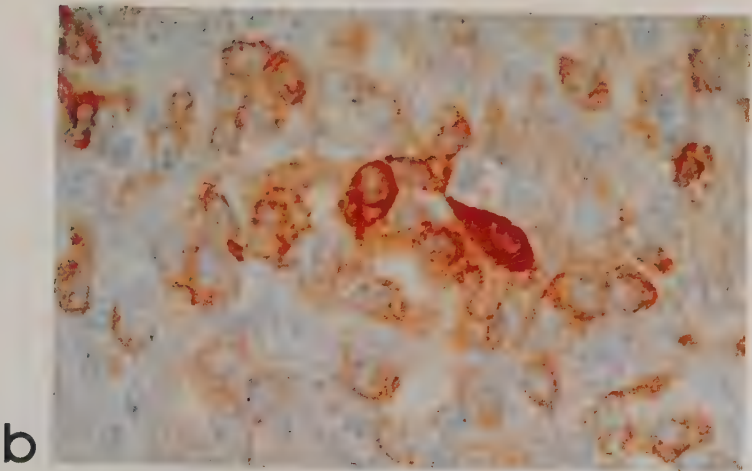
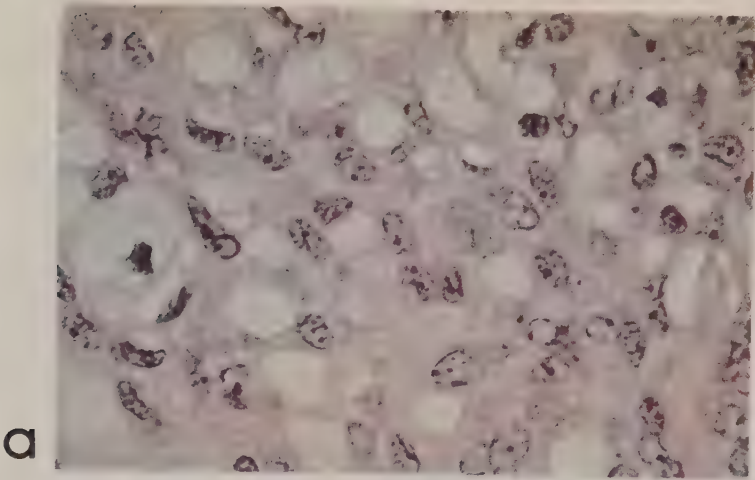
Alle 9 Acinuszelltumoren wurden auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht.

Abb.24: Acinuszelltumor.

Mäßiger, teilweise starker Nachweis von
Lysozym innerhalb eines Acinuszelltumors (b).

Paraffinschnitt a) HE (Vergr. 600fach).

b) Kernfärbung mit Hämalaun
(Vergr. 600fach)



Tab.12: Nachweis von Lysozym in Acinuszelltumoren

untersuchtes Enzym	Anzahl n	LYSOZYM		
		-	+	++
acinäre Tumoranteile	9	7	1	1

Zwei der neun Acinuszelltumoren zeigte eine positive Reaktion für Lysozym. Bei den restlichen konnte keine eindeutig positive Reaktion festgestellt werden.

Tab.13: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in Acinuszelltumoren

untersuchtes Enzym	Anzahl n	ALPHA1-ANTI-CHYMOTRYPSIN			ALPHA1-ANTI-TRYPsin		
		-	+	++	-	+	++
acinäre Tumoranteile	9	2	2	5	8	1	-

Für Alpha₁-Antichymotrypsin war die positive Reaktion überwiegend stark ausgeprägt und auch nahezu gleichmäßig im gesamten Tumorgebiet verteilt. Nur bei einem Acinuszelltumor konnte eine eindeutig positive Reaktion für Alpha₁-Antitrypsin nachgewiesen werden.

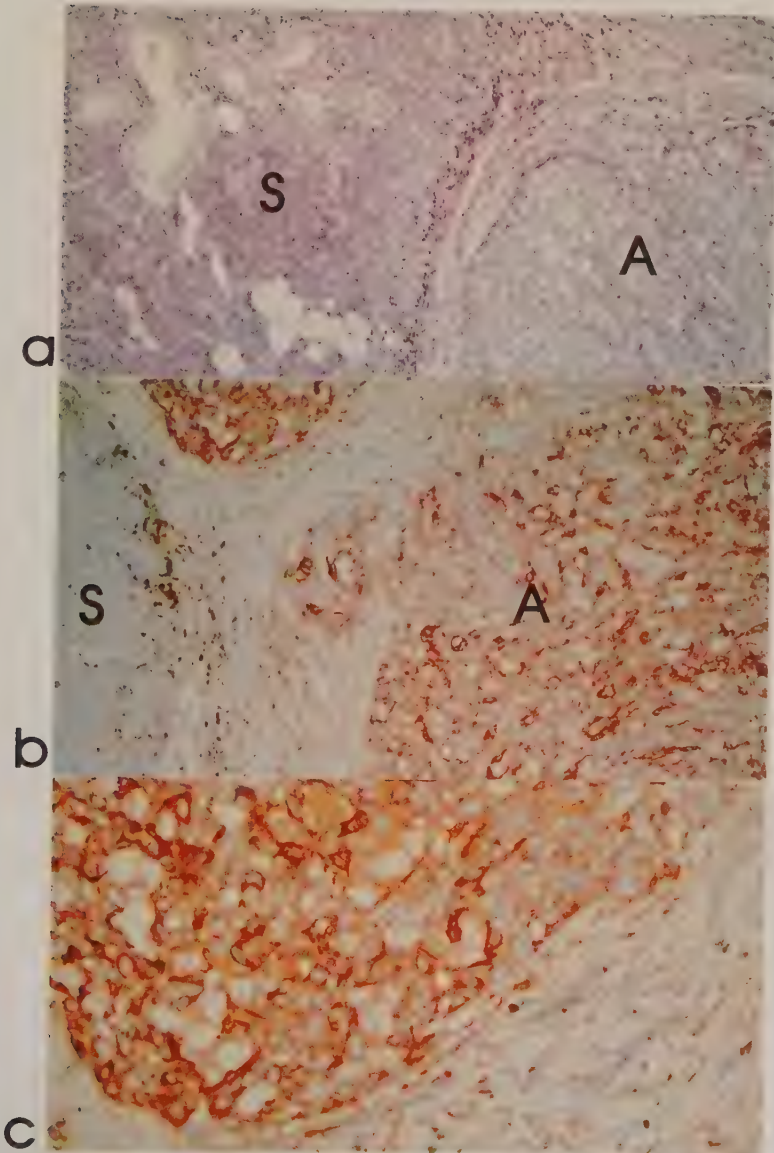
Abb.25: Acinuszelltumor.

Vom Speicheldrüsengewebe (S) durch eine fibröse Pseudokapsel abgegrenzter Acinuszelltumor (A), der sehr starke Reaktionen für Alpha₁-Antichymotrypsin zeigt (b) und c)).

Paraffinschnitt a) HE (Vergr. 100fach)

b) Kernfärbung mit Hämalaun (Vergr. 100fach)

c) Kernfärbung mit Hämalaun (Vergr. 230fach)

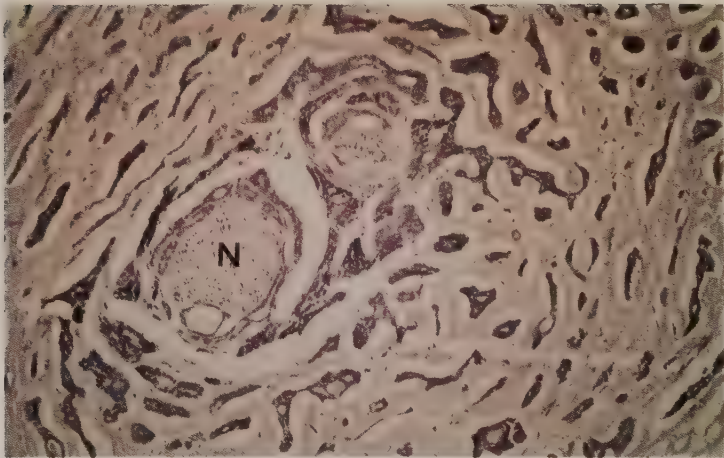


4.5. Carcinome:

4.5.1. adenoid-cystisches Carcinom:

Adenoid-cystische Carcinome gehören zur Gruppe der malignen Speicheldrüsentumoren. Ihre Rezidivneigung ist groß und sie zeigen lokal infiltratives Wachstum mit charakteristischer perineuraler Ausbreitung. Unter den 253 Speicheldrüsentumoren fanden sich 12 (entsprechen 4,7%) adenoid-cystische Carcinome. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 55 Jahre. Das Verhältnis von weiblichen zu männlichen Patienten war 5:1.

Abb.26: Adenoid-cystisches Carcinom.
Netzartig verzweigte Epithelstränge in cribriformer Anordnung. Infiltration eines Nervenastes (N).
Paraffin, HE (Vergr. 100fach)



Makroskopisch sind diese Tumoren meist gut abgekapselt und weisen eine gallertige Schnittfläche ähnlich der von pleomorphen Adenomen auf. Histologisch besteht jedoch ein infiltratives Wachstum mit Durchsetzung der Nervenscheiden, kleiner Gefäßäste oder des Kieferknochens. Die Tumoren bestehen aus netzartig verzweigten Epithelsträngen, die häufig kleine Hohlräume bilden und so zum typisch cribriformen Baumuster führen. Umgeben sind die Epithelien von einem meist hyalinen Stroma.

Neben Epithelien, die normalen Gangepithelien ähneln, finden sich bei den adenoid-cystischen Carcinomen aber auch Myoepithelien (Kleinsasser et al. 1969). Sie dürften für die Tumorentstehung und die Bildung von Interzellulärsubstanzen eine wesentliche Rolle spielen. Das Nebeneinander von Gangepithelien und Myoepithelien führte zu der Auffassung, diese Tumoren von der Regenerationszone im Schaltstückbereich abzuleiten, da dort auch die normale Differenzierung dieser Zellarten erfolgen soll (Eversole 1971, Regezi und Batsakis 1977).

Untersuchungsergebnisse:

10 adenoid-cystische Carcinome wurden auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha_1 -Antichymotrypsin und Alpha_1 -Antitrypsin untersucht.

Tab.14: Nachweis von Lysozym in adenoid-cystischen Carcinomen

untersuchtes Enzym	Anzahl n	LYSOZYM		
		-	+	++
Epithelien	10	10	-	-
Material in Lumina	10	10	-	-

Lysozym konnte in keinem der adenoid-cystischen Carcinome nachgewiesen werden.

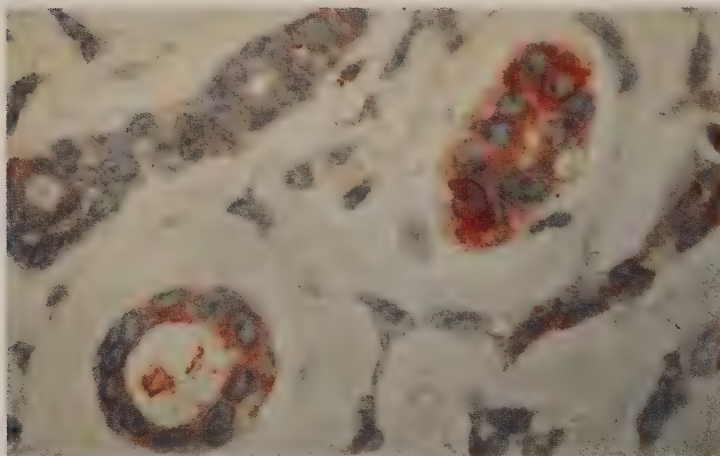
Tab.15: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in adenoid-cystischen Carcinomen

untersuchtes Enzym	Anzahl n	ALPHA1-ANTI-CHYMOTRYPSIN			ALPHA1-ANTI-TRYPSIN		
		-	+	++	-	+	++
Epithelien	10	3	3	4	9	1	-
Material in Lumina	10	3	4	3	9	1	-

Abb.27: Adenoid-cystisches Carcinom.

Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin in den Epithelien. Auch hier stärkere Reaktionen im Bereich tubulär/cystischer Lagerung.

Paraffinschnitt, Kernfärbung mit Hämalaun
(Vergr. 600fach)



Die Epithelien reagierten durchwegs mäßig bis stark für Alpha₁-Antichymotrypsin, dabei war das in den cystischen Hohlräumen enthaltene Sekret immer auch positiv. Für Alpha₁-Antitrypsin konnte nur in einem Carcinom eine eindeutig positive Reaktion gesehen werden, wobei Epithelien und Sekret mäßig stark reagierten.

4.5.2. Adenocarcinom:

Die Gruppe der Adenocarcinome ist eine morphologisch vielgestaltige Tumorklasse. Sie sind zwar alle aus drüsigen Epithelien aufgebaut, können aber keiner sonstigen Gruppe von Speicheldrüsentumoren zugeordnet werden. Unter den 253 Speicheldrüsentumoren wurden 4 (entsprechend 1,6%) den Adenocarcinomen zugeordnet. Das durchschnittliche Alter der Patienten lag bei 75 Jahren. In drei Fällen waren männliche Patienten betroffen und in einem Fall eine weibliche Patientin. Die Adenocarcinome zeigen meistens eine unscharfe Begrenzung. Auch histologisch imponiert ihr infiltratives Wachstum. Sie bestehen aus drüsigen Epithelien, die solide, tubulär oder papillär gelagert sein können. Teilweise handelt es sich auch um schleimproduzierende Carcinome.

Da die Tumorzellen elektronenmikroskopisch an undifferenzierte Schaltstücke erinnern, geht man davon aus, daß diese Tumorart ebenfalls aus den Reservezellen im Schaltstückbereich der Speicheldrüsen entsteht (Eversole 1971, Regezi und Batsakis 1977).

Untersuchungsergebnisse:

4 Adenocarcinome wurden auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht.

Tab.16: Nachweis von Lysozym in Adenocarcinomen

untersuchtes Enzym	Anzahl n	LYSOZYM		
		-	+	++
Reaktionsstärke				
drüsige Epithelien	4	3	1	-
Material in Lumina	4	3	1	-

Nur bei einem Präparat fand sich eine positive Reaktion für Lysozym. Es handelt sich dabei allerdings um einen Tumor, der nur vereinzelt typische Merkmale eines papillären Adenocarcinoms aufwies, trotzdem aber dieser Gruppe zugeordnet wurde.

Tab.17: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in Adenocarcinomen

untersuchtes Enzym	Anzahl n	ALPHA1-ANTI- CHYMOTRYPSIN			ALPHA1-ANTI- TRYPSIN		
		-	+	++	-	+	++
drüsige Epithelien	4	-	2	2	3	1	-
Material in Lumina	4	-	2	2	3	-	1

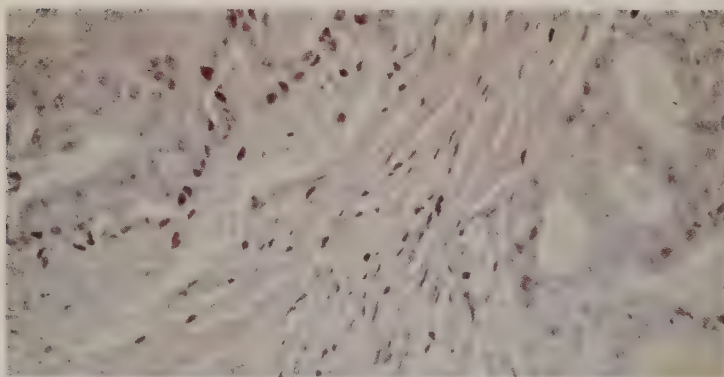
Abb.28: Adenocarcinom.

Starker Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin in den drüsigen Epithelien (b).

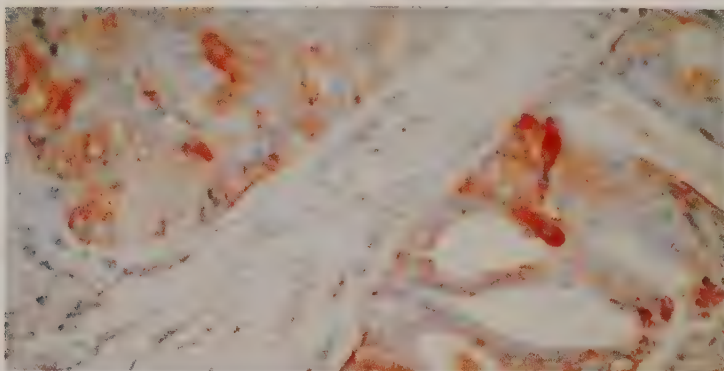
Paraffinschnitt a) HE (Vergr. 230fach)

b) Kernfärbung mit Hämalaun
(Vergr. 230fach)

a



b



Sämtliche Adenocarcinome zeigten positive Reaktionen für Alpha₁-Antichymotrypsin, wobei wie bei den adenoid-cystischen Carcinomen Epithelien, wie auch das in den Lumina enthaltene Sekret positiv reagierten. Alpha₁-Antitrypsin konnte nur in dem Präparat eines schleimbildenden Adenocarcinoms nachgewiesen werden. Bei den negativen Präparaten handelte es sich um papillär oder angedeutet cribriform aufgebaute Adenocarcinome.

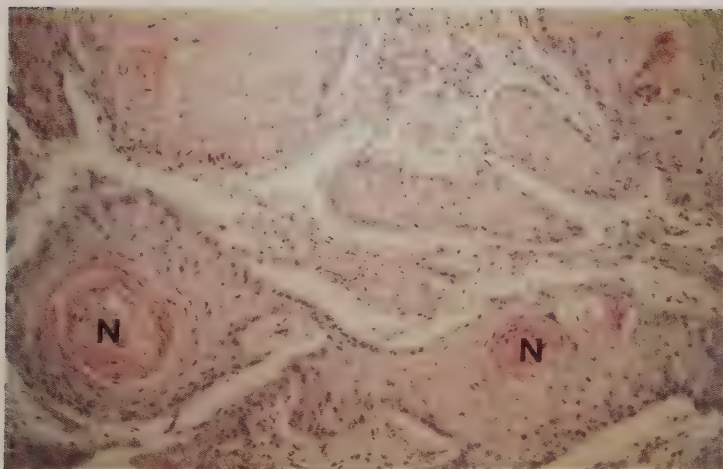
4.5.3. Plattenepithelcarcinom:

Plattenepithelcarcinome sind schnellwachsend und zeigen infiltratives Wachstum. Unter den 253 epithelialen Speicheldrüsentumoren befanden sich 3 (entsprechend 1,2%) Plattenepithelcarcinome. Das Durchschnittsalter der zwei männlichen und eines weiblichen Patienten betrug 77 Jahre. Von den primären Plattenepithelcarcinomen der Speicheldrüsen müssen die durch Metastasierung anderer Kopf- und Halscarcinome in die Speicheldrüsenlymphknoten entstandenen, unterschieden werden.

Abb.29: Plattenepithelcarcinom.

Epidermoide Zellen, die stellenweise verhornende Nester (N) bilden.

Paraffinschnitt, HE (Vergr. 100fach)



Primäre Plattenepithelcarcinome der Speicheldrüsen zeigen eine unscharfe Begrenzung und bestehen aus epidermoiden Zellen, die stellenweise verhornende Nester oder interzelluläre Brücken bilden.

Die Entstehung dieser Tumorart soll ähnlich der von Mucoepidermoidtumoren erfolgen. Einerseits könnten Epithelmetaplasien Ursprung des Tumorwachstums sein (Regezi und Batsakis 1977), andererseits könnten Plattenepithelcarcinome auch direkt aus den Reservezellen des Ausführungsgangsystems durch neoplastische Transformierung hervorgehen (Eversole 1971).

Untersuchungsergebnisse:

3 Plattenepithelcarcinome, bei denen eine primäre Entstehung im Speicheldrüsengewebe angenommen wird, wurden auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht.

Tab.18: Nachweis von Lysozym in Plattenepithelcarcinomen

untersuchtes Enzym	Anzahl n	LYSOZYM		
		-	+	++
epidermoide Zellen	3	3	-	-

Bei keinem der Präparate konnte Lysozym nachgewiesen werden.

Tab.19: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in Plattenepithelcarcinomen

untersuchtes Enzym	Anzahl n	ALPHA1-ANTI- CHYMOTRYPSIN			ALPHA1-ANTI- TRYPSIN		
		-	+	++	-	+	++
epidermoide Zellen	3	3	-	-	3	-	-

Bei den Plattenepithelcarcinomen konnte keine Reaktion für Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin beobachtet werden. Nur in einem Präparat fiel eine positive Reaktion im Bereich von verhornenden Plattenepithelnestern auf. Da es sich hierbei jedoch um nekrotische Bezirke handelte, wurde dieser Tumor als negativ gewertet.

4.5.4. undifferenziertes Carcinom:

Diese malignen Tumoren besitzen zwar eine epitheliale Struktur, sind aber zu wenig differenziert, um sie in eine der anderen Tumorgruppen einordnen zu können. Unter den 253 Speicheldrüsentumoren wurden 10 (entsprechen 3,9%) aus der Gruppe der undifferenzierten Carcinome diagnostiziert. Das mittlere Lebensalter der Patienten betrug 67 Jahre. Beide Geschlechter waren gleich häufig betroffen.

Die undifferenzierten Carcinome bestehen aus Zellen, die mit entsprechenden Untersuchungsmethoden (Elektronenmikroskopie, Immunhistochemie) noch epitheliale Marker aufweisen. Sie sind aber nicht bestimmten Differenzierungsformen zuzuordnen. Die Tumorzellen sind meist polymorph, neben rundlichen und ovalen, können auch spindelzellförmige Formen vorkommen.

Undifferenzierte Carcinome sollen dann in den Regenerationszonen der Speicheldrüsen entstehen, wenn die neoplastische Transformation erfolgt, bevor eine irgendwie geartete Differenzierung dieser Reservezellen stattgefunden hat (Batsakis 1980).

Untersuchungsergebnisse:

9 undifferenzierte Carcinome wurden auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht.

Tab.20: Nachweis von Lysozym in undifferenzierten Carcinomen

untersuchtes Enzym	Anzahl n	LYSOZYM		
Reaktionsstärke		-	+	++
undifferenzierte Zellen	9	9	-	-

Bei keinem der undifferenzierten Carcinome konnte Lysozym nachgewiesen werden.

Tab.21: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in undifferenzierten Carcinomen

untersuchtes Enzym	Anzahl n	ALPHA1-ANTI-CHYMOTRYPSIN			ALPHA1-ANTI-TRYPSIN		
Reaktionsstärke		-	+	++	-	+	++
undifferenzierte Zellen	9	5	4	-	9	-	-

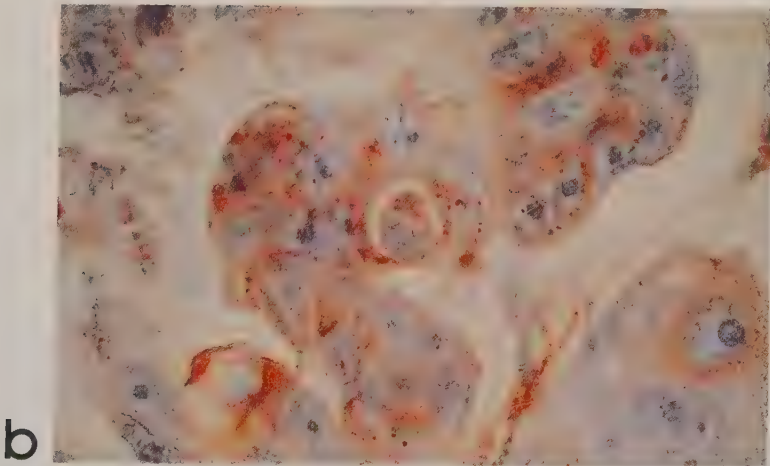
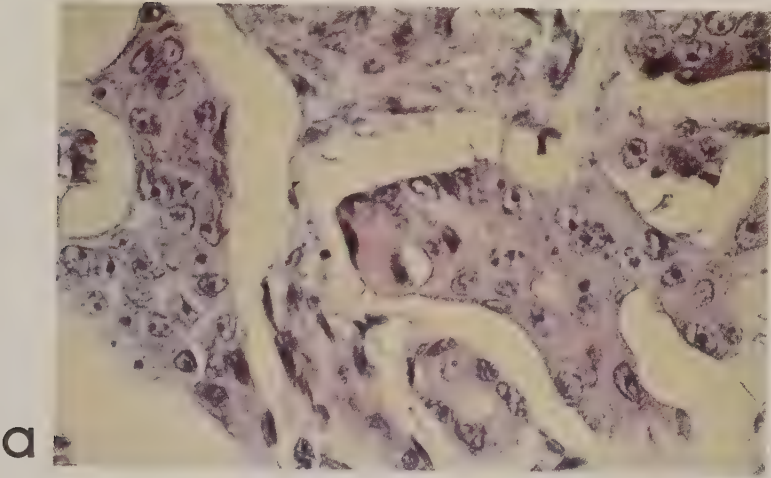
4 der undifferenzierten Carcinome zeigten eine schwache bis mäßige Reaktion für Alpha₁-Antichymotrypsin, wobei einzelne Tumorbereiche zwar deutlich reagierten, andere jedoch keinerlei Reaktion zeigten. Alpha₁-Antitrypsin konnte in keinem der Präparate nachgewiesen werden.

Abb.30: Undifferenziertes Carcinom.

Die einzelnen Tumorzellen zeigen im Cytoplasma
mäßig positive Reaktionen für Alpha₁-Antichymo-
trypsin (b).

Paraffinschnitt a) HE (Vergr. 370fach)

b) Kernfärbung mit Hämalaun
(Vergr. 600fach)



4.5.5. Carcinom in pleomorphem Adenom:

Das Carcinom im pleomorphen Adenom ist definiert durch das Vorhandensein von Zellresten eines pleomorphen Adenoms und das Auftreten eines Carcinoms mit infiltrativem Wachstum (Eneroth et al. 1969). Unter den 253 epithelialen Speicheldrüsentumoren fanden sich 6 Carcinome in pleomorphem Adenomen (entsprechend 2,4%). Das mittlere Lebensalter der Patienten lag bei 53 Jahren. Das Geschlechtsverhältnis war ausgeglichen.

Histologisch bieten die Tumoren das Bild invasiven Wachstums. Die malignen Tumoranteile können verschiedene Differenzierungen aufweisen wie Plattenepithelcarcinome, adenoid-cystische Carcinome o.a.m. (Seifert und Donath 1976). Zur Diagnose gehört aber immer das Vorhandensein von Resten eines pleomorphen Adenoms. Heutzutage nimmt man an, daß dieser maligne Tumor als Folge einer Fehldifferenzierung innerhalb eines bestimmten Areals eines vorbestehenden Adenoms entsteht (Seifert und Donath 1976).

Untersuchungsergebnisse:

4 Carcinome in pleomorphen Adenomen wurden auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht.

Tab.22: Nachweis von Lysozym in Carcinomen innerhalb pleomorpher Adenome

untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl n	LYSOZYM		
		-	+	++
epithelialer Carcinomanteil	4	4	-	-

In den malignen Tumoranteilen ließ sich Lysozym nicht nachweisen.

Tab.23: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in Carcinomen innerhalb pleomorpher Adenome

untersuchtes Enzym	Anzahl n	ALPHA1-ANTI-CHYMOTRYPSIN			ALPHA1-ANTI-TRYPSIN		
		-	+	++	-	+	++
epithelialer Carcinomanteil	4	3	1	-	4	-	-

Nur in einem Adenocarcinom innerhalb eines pleomorphen Adenoms konnte Alpha₁-Antichymotrypsin nachgewiesen werden. Alle sonstigen Tumoren waren im Carcinomanteil negativ. Eine Reaktion für Alpha₁-Antitrypsin konnte in den Carcinomanteilen der Tumoren nicht beobachtet werden.

4.6. Zusammenfassung der Befunde:

In den Jahren 1978 bis 1983 wurden insgesamt 253 Speicheldrüsentumoren in der Außenstelle Großhadern des Pathologischen Instituts der Universität München befundet.

Tab.24: Verteilung der nach WHO-Klassifikation eingeteilten Speicheldrüsentumoren (n = 253)

Tumorart	Anzahl	in %	Alter im Mittel	Altersspanne	Geschlecht ♂ : ♀
pleomorphes Adenom	133	52,6	46,8	15 - 82	48 : 85
Adenolymphom	59	23,3	63,1	36 - 91	42 : 17
Onkocytom	2	0,8	63,5	51 - 71	0 : 2
sonstige monomorphe Adenome	12	4,7	64,0	44 - 79	0 : 12
Mucoepidermoid-tumor	3	1,2	43,3	26 - 73	3 : 0
Acinuszelltumor	9	3,6	56,2	36 - 75	1 : 8
Aden.-cystisch. Carcinom	12	4,7	54,9	38 - 83	3 : 9
Adenocarcinom	4	1,6	74,5	56 - 92	3 : 1
Plattenepithelcarcinom	3	1,2	77,3	73 - 82	2 : 1
Undifferenzier-tes Carcinom	10	3,9	66,6	38 - 83	5 : 5
Carcinom im pleomorphen Adenom	6	2,4	52,6	32 - 70	3 : 3
Gesamt	253	100,0	54,0	15 - 92	109:143

Lysozym:

Die Reaktion für Lysozym war bis auf wenige Ausnahmen negativ. Ein pleomorphes Adenom zeigte im Bereich tubulär gelagerter Epithelien eine mäßige positive Reaktion, gleichzeitig war das in den Lumina enthaltene Sekret positiv. Im gleichen Präparat war das knorpelartige Stroma stark positiv. Zwei Acinuszelltumoren wiesen eine mäßige bis starke

Reaktion für Lysozym auf. Ebenso fand sich bei einem Präparat, das am ehesten als Adenocarcinom klassifiziert werden konnte, eine mäßig positive Reaktion des epithelialen Anteils.

Zusammenfassend wurden folgende Reaktionsstärken bei alleiniger Berücksichtigung des epithelialen Tumoranteils beobachtet.

Tab.25: Nachweis von Lysozym in epithelialen Speicheldrüsentumoren

untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	An- zahl	LYSOZYM		
		-	+	++
pleomorphes Adenom	13	12	1	-
Adenolymphom	10	10	-	-
Onkocytom	2	2	-	-
sonstige monomorphe Ad.	10	10	-	-
Mucoepidermoidtumor	3	3	-	-
Acinuszelltumor	9	7	1	1
adenoid-cyst.Carcinom	10	10	-	-
Adenocarcinom	4	3	1	-
Plattenepithelcarcinom	3	3	-	-
Undiff. Carcinom	9	9	-	-
Ca. in pleomorphem Ad.	4	4	-	-

Alpha₁-Antichymotrypsin:

Die Reaktion für Alpha₁-Antichymotrypsin war mit wenigen Ausnahmen durchwegs mäßig bis stark positiv. Die ausgeprägtesten Reaktionen fanden sich bei Acinuszelltumoren und Adenolymphomen. Die schwächsten Reaktionen zeigten undifferenzierte Carcinome und Carcinome in pleomorphen Adenomen. Plattenepithelcarcinome waren negativ.

Auffällig war, daß tubulär konfigurierte Epithelbereiche stets die am deutlichsten positiven Reaktionen zeigten unab-

hängig von der jeweiligen Tumorart. Das in den jeweiligen "Drüsenlichtungen" enthaltene Sekret war dabei immer auch positiv. Trabekulär gelagerte Epithelien waren sehr viel schwächer positiv. Solide Tumorbereiche zeigten nur ausnahmsweise eine positive Reaktion.

Auffallend war ebenfalls die stark unterschiedliche Reaktion innerhalb eines Präparates. So fanden sich teilweise stark positive Anteile neben völlig negativen.

Folgende Reaktionsstärken wurden bei alleiniger Berücksichtigung des epithelialen Tumoranteils beobachtet:

Tab.26: Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin in epithelialen Speicheldrüsentumoren

untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	Anzahl	ALPHA1-ANTI-CHYMOTRYPSIN		
		-	+	++
pleomorphes Adenom	13	5	5	3
Adenolymphom	10	-	6	4
Onkocytom	2	-	2	-
sonstige monomorphe Ad.	10	4	4	2
Mucoepidermoidtumor	3	1	2	-
Acinuszelltumor	9	2	2	5
adenoid-cyst. Carcinom	10	3	3	4
Adenocarcinom	4	-	2	2
Plattenepithelcarcinom	3	3	-	-
Undiff. Carcinom	9	5	4	-
Ca. in pleomorph. Ad.	4	3	1	-

Alpha₁-Antitrypsin:

Die Reaktion für Alpha₁-Antitrypsin zeigte große Unterschiede bei den verschiedenen Tumorarten. Adenolymphome waren stark positiv. Ebenfalls positive Reaktionen zeigten die zwei Onkocytoime. Die anderen Tumorarten zeigten

in ihren epithelialen Anteilen keine eindeutig positiven Reaktionen.

Positive Reaktionen wurden wie bei Alpha₁-Antichymotrypsin vorwiegend in tubulär gelagerten Epithelbereichen unabhängig vom Tumortyp beobachtet. Die positive Reaktion war aber intensitätsschwächer und trat seltener auf. Das knorpelartige Stroma eines pleomorphen Adenoms reagierte auf Alpha₁-Antitrypsin wie auf die beiden anderen untersuchten Enzyme ebenfalls positiv.

Die Acinuszelltumoren, die ja stark auf Alpha₁-Antichymotrypsin reagierten, zeigten keine eindeutig positive Reaktion für Alpha₁-Antitrypsin.

Die unterschiedliche Reaktionsstärke innerhalb eines Präparates fiel auch beim Nachweis von Alpha₁-Antitrypsin auf. Folgende Reaktionsstärken konnten bei alleiniger Berücksichtigung des epithelialen Tumoranteils beobachtet werden:

Tab.27: Nachweis von Alpha₁-Antitrypsin
in epithelialen Speicheldrüsentumoren

untersuchtes Enzym Reaktionsstärke	An- zahl	ALPHA ₁ -ANTI- TRYPsin		
		-	+	++
pleomorphes Adenom	13	12	1	-
Adenolymphom	10	1	3	6
Onkocytom	2	-	2	-
sonstige monomorphe Ad.	10	10	-	-
Mucoepidermoidtumor	3	2	1	-
Acinuszelltumor	9	8	1	-
adenoid-cyst. Carcinom	10	9	1	-
Adenocarcinom	4	3	1	-
Plattenepithelcarcinom	3	3	-	-
Undiff. Carcinom	9	9	-	-
Ca. in pleomorphem Ad.	4	4	-	-

5. DISKUSSION DER BEFUNDE UNTER 3. UND 4.

Diskussion der Methodik:

Die verwendete Immunperoxidase-methode zum Nachweis von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin hat gegenüber der Immunfluoreszenztechnik den wesentlichen Vorteil, daß sie auch am fixierten paraffineingebetteten Material durchgeführt werden kann und deshalb retrospektive Studien wie die vorliegende Untersuchung erst möglich sind. Außerdem ist bei gleicher Sensitivität (Taylor 1978) eine wesentlich bessere morphologische Zuordnung des Reaktionsproduktes möglich. Ein nicht zu vernachlässigender Vorteil besteht darin, daß die Reaktionsprodukte beständig sind und somit auch nach größeren Zeiträumen eine erneute Beurteilung vorgenommen werden kann.

Die in unseren Untersuchungen angewandte indirekte Immunperoxidasetechnik zählt zu den Konjugationsmethoden. Allgemeine Nachteile dieser Methode zur Auffindung bestimmter Antigene müssen bei der Auswertung berücksichtigt werden. Durch die Fixierung der zu untersuchenden Gewebe kann es zur Denaturierung und Inaktivierung von Antigenen kommen (Taylor 1978, Reitamo 1978). Die Fixation in Neutralformalin, die von uns benutzt wurde, zeigt nach Untersuchungen von Bergroth et al. (1982) keine gesteigerte Artefaktrate. Auch die Dauer der Fixierung kann durch Ausschwemmen von Antigenen einen Einfluß auf die Stärke einer mehr oder weniger vorhandenen unspezifischen Hintergrundfärbung haben (Reitamo 1978). Weitere Gründe für unspezifische Reaktionen können die Aggregation von ungebundenen oder nur teilweise gebundenen Antikörpern oder verbliebene freie Antikörper sein. Zur Auswaschung der ungebundenen Antikörper hat sich die von uns verwendete Briylösung (s. ausführliche Beschreibung in II.1.3.) bewährt und schaltet diesen Faktor weitestgehend aus (Nathrath und Meister 1982, Permanetter und Meister 1984). Untersuchungen über die Anwendung verschiedener Pufferlösungen (PBS-, Tris-, Citratpuffer) bei der Immunperoxidase-methode zeigten kei-

nerlei Unterschiede (Bergroth et al. 1980). Die Pronase-vorbehandlung scheint zur Demaskierung von Alpha₁-Antichymotrypsin in formalinfixierten Paraffinblöcken wichtig zu sein (Nathrath und Meister 1982). Neben diesen der Methodik selbst anhaftenden Fehlerquellen sind noch gewebsbedingte Gründe für eine Zunahme der unspezifischen Hintergrundfärbung zu nennen. Entzündungen und Nekrosen, gerade bei schnell wachsenden Tumoren führen zu einer Diffusion von Antigenen in die Umgebung und erschweren so die Zuordnung von positiven Reaktionen zu einzelnen Zellgruppen (Taylor 1978).

Um diejenigen Antikörperkonzentrationen herauszufinden, bei der die spezifische Reaktion bestmöglich sichtbar und die unspezifische Hintergrundreaktion möglichst gering ausgeprägt ist, wurde in entsprechenden Vorversuchen die optimale Antikörperkonzentration bestimmt. Je höher dabei die Antikörperverdünnung ist, desto spezifischer ist die Aussagekraft über die Lokalisation von positiven Reaktionen (Bigbee et al. 1977).

Die Auswertung unserer Untersuchungen erfolgte semi-quantitativ. Es fielen sehr starke Unterschiede im Reaktionsverhalten in verschiedenen Gebieten des gleichen Tumorschnittes auf. Dieses Phänomen wurde bei immunhistochemischen Untersuchungen schon öfters beobachtet (Pinkus und Said 1977, Kittas et al. 1982, Seifert und Caselitz 1983). Eine genaue Quantifizierung erscheint daher fragwürdig, da sie ja immer nur einen Teil des Tumorschnittes erfasst. Sind die Unterschiede innerhalb eines Schnittes jedoch schon so groß, so ist dieser eine Tumorauschnitt sicherlich nicht als repräsentativ für das Verhalten des Gesamttumors anzusehen.

Diskussion der Befunde:

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir Biopsiematerial, das zwischen 1978 und 1983 in der Außenstelle Großhadern des Pathologischen Instituts der Universität

München anfiel. Die sich dabei ergebende Häufigkeitsverteilung ist in Tab. 1 aufgeführt. Sie entspricht in etwa derjenigen, die bereits von anderen Autoren ermittelt wurde (Seifert 1966, Thackray und Sobin 1972, Seifert und Donath 1976, Sharkey 1978, Mintz et al. 1982, Hunter et al. 1983, Spitz und Batsakis 1984). Pleomorphe Adenome stellten dabei immer den Hauptanteil der Tumoren (50 - 70%). Bei uns lag der Anteil bei 52,6%. Zweit häufigster Tumor war das Adenolymphom mit 23,3%, es hat dabei einen etwas höheren Anteil als in der Literatur bisher beschreiben (2 - 18%). Die sonstigen Tumoren lagen alle in der Größenordnung von 1 - 5%. In unserem Untersuchungsgut fiel auf, daß die Mucoepidermoidtumoren mit 1,2% im Vergleich zur Literatur (1 - 6%, s. auch Weiss 1964) relativ unterrepräsentiert waren.

Bei der großen morphologischen Vielfalt der Speicheldrüsentumoren ergibt sich aus der Entwicklungsgeschichte der Speicheldrüsen ein Zugang zum Verständnis. Den Myoepithelzellen kommt hierbei eine besondere Bedeutung zu. Ihr Ursprung, ob ektodermal oder mesenchymal, wird immer wieder diskutiert (Welsh und Mayer 1968). Überwiegend wird jedoch angenommen, sie seien ektodermaler Herkunft (Donath 1978, Dardick et al. 1982). Myoepithelzellen spielen eine Rolle beim pleomorphen Adenom, beim adenoid-cystischen Carcinom, beim Speicheldrangcarcinom und natürlich beim Myoepitheliom (Kleinsasser et al. 1968, Hübner 1971, Hübner et al. 1971, Sciubba et al. 1972, Dardick et al. 1982). Besonders im pleomorphen Adenom und adenoid-cystischen Carcinom tragen sie durch Produktion von Interzellulärsubstanz zur Formgebung bei. In streng monomorphen Adenomen spielen die Myoepithelien ebenso wie in Mucoepidermoid- und Acinuszelltumoren keine Rolle (Hübner 1971, Chaudhry et al. 1983). Die monomorphen Adenome könnten demnach eine extreme Differenzierungsvariante sein, an deren anderem Ende das Myoepitheliom und in deren Mitte das pleomorphe Adenom steht (Dardick et al. 1982), bei dem es durch unregelmäßige Pro-

liferation von Epithelien und Myoepithelien dann zum charakteristischen bunten Bild kommt.

Für die Einklassifizierung der Tumoren haben sich in letzter Zeit neue Aspekte durch die Anwendung von Tumormarkern ergeben. Zu der Gruppe der Tumormarker gehören cytoplasmatische Antigene (z.B. Aktin-, Präkeratin-, Vimentin-filamente), Zellmembranantigene (z.B. CEA) oder enzymatische Zellprodukte (z.B. Laktoferrin, Lysozym, Amylase). Präkeratin ist als Bestandteil der Tonofilamente charakteristischerweise in epithelialen Zellen nachweisbar. In Parotistumoren wurde es in den onkocytären Zellen des Adenolymphoms, in den Epithelzellen und Myoepithelzellen der pleomorphen Adenome sowie in den epidermoiden Tumorzellen der Mucoepidermoidtumoren und Plattenepithelcarcinomen nachgewiesen (Caselitz et al. 1981). Vimentin markiert hingegen mesenchymale Zellen wie Fibrocyten, Endothelzellen und Muskelzellen der Gefäße sowohl in der normalen Parotis als auch in Parotistumoren (Seifert 1982). Bemerkenswert ist, daß in pleomorphen Adenomen auch Epithelien, die nach Lage und Form den Myoepithelien zuzuordnen sind, Vimentin-positiv waren. Der Aktinnachweis in pleomorphen Adenomen zeigte, daß die Tumorzellen reichlich Aktin enthielten (Caselitz und Löning 1981). Histochemische Studien über Interzellulärsubstanzen fanden Laminin verstärkt in adenoid-cystischen Carcinomen, weniger ausgeprägt in pleomorphen Adenomen, Mucoepidermoidtumoren und Adenocarcinomen. Die negative oder nur äußerst schwache Reaktion mit "Faktor VIII-related Antigen" in myxomatösen Arealen des pleomorphen Adenoms wurde als Ausdruck der minderen Differenzierung dieser Gebiete angesehen (Toida et al. 1984). Als Marker für Zellen mit myoepithelialer Differenzierung stellten Hara et al. (1983) das S-100 Protein fest. Sie wiesen es in nahezu allen Tumorzellen des pleomorphen Adenoms mit Ausnahme der Gangepithelien, sowie in adenoid-cystischen Carcinomen nach.

Bei den Zellmembranantigenen wurde CEA in der normalen

Parotis, besonders aber in drüsig differenzierten Tumoren wie Adenocarcinomen, adenoid-cystischen Carcinomen, Mucoepidermoidtumoren und pleomorphen Adenomen gefunden. Plattenepithelcarcinome waren teilweise auch positiv, wobei speziell in hochdifferenzierten verhornenden Tumorformen der Nachweis gelang (Seifert 1982, Seifert und Caselitz 1983). TPA wurde besonders in der epidermoiden Tumorkomponente von Mucoepidermoidtumoren nachgewiesen. TPA wird nach neueren Untersuchungen nicht mehr als Zellmembranantigen angesehen, sondern als Marker für cytoplasmatische Keratinfilamente (Weber et al. 1984, Nathrath et al. 1985). Zudem wird ihm eine Bedeutung bei der Proliferationskinetik von Tumoren zugeschrieben und daraus der Schluß gezogen, daß die epidermoiden Zellen den aktiven Proliferationspool in den Mucoepidermoidtumoren darstellen (Seifert 1982, Seifert und Caselitz 1983).

Cytochemisch nachweisbare Zellprodukte ermöglichen nicht nur die Identifizierung bestimmter Tumorzellen, sondern vermitteln auch Einblicke in das funktionelle Verhalten von Tumorzellen. Vigliani und Stramignoni (1981) konnten nachweisen, daß nicht nur Acinuszellen und distale Schaltstücke in Speicheldrüsen sezernieren, sondern auch drüsig differenzierte Tumorzellen in pleomorphen Adenomen zur Sekretion befähigt sind. Laktoferrin ist an der unspezifischen Abwehr beteiligt und wurde in der normalen Parotis in Acinuszellen und Gangepithelien nachgewiesen. Bei den Parotistumoren sind speziell die drüsig differenzierten Tumoren durch einen deutlichen Laktoferringehalt gekennzeichnet. Dies sind Adenocarcinome, adenoid-cystische Carcinome, Speicheldrüsencarcinome, Mucoepidermoidtumoren, drüsige Anteile von pleomorphen Adenomen oder Carcinomen in pleomorphen Adenomen. (Korsrud und Brandtzaeg 1984). Plattenepithelcarcinome und undifferenzierte Carcinome enthalten kein Laktoferrin (Caselitz et al. 1981). Als Markersubstanz für Acinuszelltumoren ist Amylase geeignet. Besonders die granulierten Tumorzellen waren positiv (Caselitz et al. 1983).

In pleomorphen Adenomen konnte Amylase nicht nachgewiesen werden (Korsrud und Brandtzaeg 1984).

Lysozym:

1922 fand Fleming eine "bemerkenswerte bakteriolytische Substanz", die er Lysozym nannte. Das Enzym ist als unspezifischer humoraler Immunitätsfaktor der körpereigenen Abwehr anzusehen. Es ist dabei in der Lage die Mukopolysaccharid-Komplexe der Bakterienwände zu depolymerisieren. Durch radioaktiv markierte Aminosäuren ließ sich nachweisen, daß Monozyten im Blut und Makrophagen im Gewebe in der Lage sind, Lysozym selbst zu synthetisieren (Literaturhinweis bei Dick 1982). Der Serumlysozymgehalt wird vorwiegend (ca. 80%) durch die Freisetzung aus Granulozyten und Makrophagen bestimmt (Pinkus und Said 1977, Geboes et al. 1983). Das im Serum enthaltene Lysozym ist somit Ausdruck des Funktionszustandes von Granulozyten und Makrophagen (Di Luzio 1979). Lysozym ist das hauptsächliche Sekretionsprodukt von Makrophagen. Es wird bereits ohne Stimulation freigesetzt (Lejeune 1979). Es läßt sich aber zeigen, daß bei granulomatösen Erkrankungen wie Tbc, Sarkoidose oder Morbus Crohn das Lysozym ansteigt (Pinkus und Said 1977). Immunhistochemisch konnte bei Patienten mit Morbus Crohn ebenfalls Lysozym innerhalb des entzündlichen Infiltrates des Ileums nachgewiesen werden (Geboes et al. 1983). Auch bei Tumorerkrankungen spielen Immunreaktionen eine wesentliche Rolle. Hierbei können Makrophagen zytotoxisch wirken und zwischen normalen und transformierten Zellen unterscheiden. Aktivierte Makrophagen setzen im Rahmen der Phagozytose vermehrt Lysozym frei. Lysozym wird deshalb als Vermittler der Antitumoraktivität von Makrophagen angesehen (Ossermann et al. 1973, Di Luzio 1979, Nash 1982). Der immunhistochemische Nachweis von Lysozym in Histiozytomen wurde anfänglich als differentialdiagnostisch (zu Non-Hodgkin-Lymphomen oder undifferenzierten Carcinomen) wichtiges Kriterium angesehen (Mendelsohn et al.

1980, Meister und Nathrath 1981). In weiteren Untersuchungen zeigte sich jedoch, daß nur ein geringer Prozentsatz aller Histiocytoide positiv für Lysozym reagierte (du Boulay 1982) und die Reaktionsstärke wohl eher Ausdruck des funktionellen Zustandes des Tumors ist. In epithelialen Tumoren wurde ebenfalls versucht Lysozym immunohistochemisch nachzuweisen. Dabei ließ sich Lysozym nur vereinzelt in Adenocarcinomen der Gallenblase und des Magens darstellen (Kittas et al. 1982, Aroni et al. 1984). Im allgemeinen erfolgte in epithelialen Tumoren kein Lysozymnachweis (Pinkus und Said 1977, Kittas et al. 1982, Nagura et al. 1984, Permanetter und Meister 1984).

Von den Speicheldrüsentumoren wurden bisher Carcinome der Parotis, pleomorphe Adenome und Adenolymphome auf ihren Lysozymgehalt untersucht. In den Carcinomen fand sich kein Lysozym (Caselitz et al. 1981). Pinkus und Said (1977) untersuchten zwei pleomorphe Adenome und konnten in den Tumorzellen kein Lysozym nachweisen. In einer Studie von Korsrud und Brandtzaeg (1984) fand sich in zwei von 15 pleomorphen Adenomen Lysozym in den gangähnlich strukturierten Tumorregionen. Permanetter und Meister (1984) fanden Lysozym weder in pleomorphen Adenomen noch in Adenolymphomen.

In unseren Untersuchungen konnte Lysozym nur in einem von 13 pleomorphen Adenomen, in zwei von neun Acinuszelltumoren und in einem von vier Adenocarcinomen nachgewiesen werden.

In den Schaltstücken von normalen Speicheldrüsen ist Lysozym nachweisbar (II.2.2.3.). Legt man nun zugrunde, daß die meisten Speicheldrüsentumoren aus der Regenerationszone im Schaltstückbereich hervorgehen sollen (s. ausführliche Darstellung unter (II.4.2.-5.) und daß von einigen Autoren der Nachweis von bestimmten Zellprodukten in Tumoren als Hinweis auf das Muttergewebe angesehen wird, so würde man bei nahezu allen Speicheldrüsentumoren den Lysozymnachweis erwarten. Wir konnten jedoch nur in einem pleomorphen Adenom Lysozym nachweisen. Hierbei waren

tubulär angeordnete Epithelien und das chondroide Stroma positiv. Von Mason und Taylor wurde 1975 Lysozym erstmals in normalem Knorpelgewebe immunhistochemisch nachgewiesen. Die positiv reagierenden tubuläre Areale wurden bereits bei Korsrud und Brandtzaeg (1984) beschrieben. Grund für diese positive Reaktion könnte der Differenzierungsgrad der Tumorzellen sein. Vergleicht man die Tumorentwicklung mit der embryonalen Entwicklung der Speicheldrüsen, so erfolgt die tubulär-cystische Lagerung spät und entspricht so einem hohen Differenzierungsgrad (Seifert und Schulz 1979). Die Fähigkeit zur Lysozymproduktion wäre dann als Ausdruck einer höheren Differenzierungsstufe denkbar, die bereits bei geringem Verlust der Differenzierung oder mit dem Wechsel zu neoplastischem Gewebe schwindet. Auch die teilweise positiven Reaktionen in Acinuszelltumoren wären so erklärbar, da es sich bei ihnen wohl um einen Tumor mit sehr hohem Differenzierungsgrad handelt (Batsakis et al. 1980). Einschränkend muß aber festgestellt werden, daß aufgrund rein morphologischer Untersuchungen nie geklärt werden kann, ob die positive Reaktion für Lysozym Ausdruck der Produktion des Tumors oder nur ein Resorptionsphänomen im Rahmen der unspezifischen Tumorabwehr ist. Zusammenfassend ist zu sagen, daß Lysozym eine unspezifische Abwehrsubstanz des Phagozytensystems ist, der für die Histogenese und das funktionelle Verhalten von Speicheldrüsentumoren keine wesentliche Bedeutung zukommt.

Im Vergleich zu den Tumoren wurde die benigne lymphoepitheliale Läsion der menschlichen Speicheldrüsen untersucht, die ja als eine entzündlich degenerative Erkrankung mit wahrscheinlich autoimmunologischer Genese anzusehen ist. Das lymphocytäre Infiltrat wie auch die charakteristischen Myoepithelinseln zeigten keine positiven Reaktionen für Lysozym. Lymphatische Zellen sind bereits auf ihren Lysozymgehalt untersucht worden. Lysozym konnte dabei nie mit immunhistochemischen Methoden nachgewiesen

werden (Klockars und Reitamo 1975, Mason und Taylor 1975, Permanetter und Meister 1984). Je nach Ausprägungsgrad der Erkrankung fanden sich noch erhaltene Acinuszellen und Schaltstückepithelien, die dann auch positiv reagierten. Insgesamt waren die positiven Reaktionen aber deutlich schwächer ausgeprägt als im normalen Speicheldrüsengewebe. Diese Befunde korrelieren gut mit Ergebnissen von Pennec et al. (1982), die eine deutliche Abnahme des Lysozymgehalts des Speichels bei Patienten mit fortgeschrittenem Sjögren-Syndrom fanden.

Alpha₁-Antichymotrypsin:

Alpha₁-Antichymotrypsin stellt einen wichtigen physiologischen Schutzfaktor im Gewebe gegen Proteolyse dar. Im Serum von Malignompatienten fand sich ein DNA-bindendes Protein mit einem Molekulargewicht von 64000 (Nakasaki et al. 1981). Dieses Protein wurde immunologisch als Alpha₁-Antichymotrypsin identifiziert (Takada 1982). Bei entzündlichen Prozessen oder malignen Erkrankungen wurde ein auf das 2-3fache der Norm erhöhter Serumgehalt von Alpha₁-Antichymotrypsin nachgewiesen (Nakasaki et al. 1981). Es wurde gezeigt, daß Alpha₁-Antichymotrypsin die Antikörperproduktion in Mäusen erhöhen kann (Literaturhinweis bei Takada 1982). Da es wie oben bereits erwähnt in vitro an DNA bindet, ist eine Beeinflussung der Proteinbiosynthese oder Zellteilung denkbar. Immunhistochemisch wurde es auch in Makrophagen nachgewiesen (Meister et al. 1980, Motoi et al. 1980, du Boulay 1982, Kittas et al. 1982, Permanetter und Meister 1984) und könnte dort wiederum als Vermittler der Tumorabwehr fungieren. Bisher spielte der immunhistochemische Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin besonders bei der Diagnostik von Histiozytomen eine wesentliche Rolle (Meister et al. 1980, Meister und Nathrath 1981, du Boulay 1982, Nathrath und Meister 1982). In neuerer Zeit wurden aber auch immer mehr epitheliale Tumoren auf das Vorkommen von Alpha₁-Antichymotrypsin untersucht. Es ließ sich dabei in Adenocarcinomen des Magens, der

Leber, der Lunge, des Pankreas, der Prostata, der Gallenblase, in spindelzelligen Plattenepithelcarcinomen, in malignen Melanomen, in ductalen Carcinomen und Fibroadenomen der Mamma, und in undifferenzierten Schilddrüsen-carcinomen nachweisen (Kittas et al. 1982, Takada et al. 1982, Tahara et al. 1983, Aroni et al. 1984, Ordenez und Manning 1984, Permanetter und Meister 1984). Dies deutet daraufhin, daß Alpha₁-Antichymotrypsin wohl vorwiegend ein Marker für drüsig differenzierte Tumoren ist.

Speicheldrüsentumoren wurden bisher nur von Permanetter und Meister (1984) untersucht. Sie fanden in pleomorphen Adenomen und Adenolymphomen positive Reaktionen für Alpha₁-Antichymotrypsin. Andere Tumorarten der Speicheldrüsen untersuchten sie nicht.

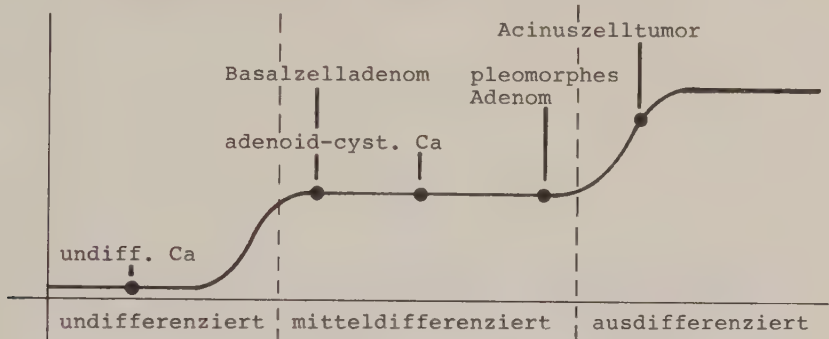
In unseren Untersuchungen zeigten sich unterschiedliche Reaktionsintensitäten in den verschiedenen Tumorarten. Am stärksten reagierten Acinuszelltumoren und Adenolymphome. Negativ oder nur äußerst schwach war die Reaktion in Plattenepithelcarcinomen, undifferenzierten Carcinomen und Carcinomen in pleomorphen Adenomen ausgeprägt. Bemerkenswert erscheint, daß sich im normalen Speicheldrüsen-gewebe Alpha₁-Antichymotrypsin nicht nachweisen läßt. Zwei Möglichkeiten kommen für das Auftreten in Betracht. Einerseits könnte es sich um ein Resorptionsphänomen bei erhöhten Plasmaspiegeln handeln (Takada et al. 1982), andererseits ist es aber durchaus denkbar, daß Tumoren dieses Protein selbst produzieren, um sich so vor Proteolyse zu schützen. Die Fähigkeit zur Produktion und Abgabe könnte dann durch die neoplastische Transformation an sich bedingt sein. Geht man aber davon aus, daß maligne Zellen aus normalen zur Zellteilung und weiteren Differenzierung befähigten Zellen hervorgehen, sozusagen als pathologisches Ereignis im Rahmen der physiologischen Gewebserneuerung (Pierce 1974), so muß man den Zeitpunkt dieser neoplastischen Transformation näher diskutieren. Das strukturelle und funktionelle Verhalten der Tumorzellen könnte dann demjenigen, der normalen in Entwicklung begrif-

fenen Zelle, entsprechen, das zum Zeitpunkt der neoplastischen Transformation bestand. So ist es durchaus denkbar, daß verschiedene Tumorarten aus derselben Regenerationszone im normalen Speicheldrüsengewebe hervorgehen (Eversole 1971). Andererseits wäre damit auch verschiedenes funktionelles Verhalten, in unserem Fall Alpha₁-Antichymotrypsinnachweis, erklärbar. Die Produktion von Alpha₁-Antichymotrypsin könnte dann als eine Fähigkeit diskutiert werden, die während der normalen Differenzierung von Ersatzzellen auftritt, bei der ausdifferenzierten und spezialisierten Zelle aber wieder verschwindet.

Betrachtet man die Embryonalentwicklung der Speicheldrüsen, so läßt sich feststellen, daß solide Strukturen einer sehr frühen Entwicklungsstufe entsprechen. Trabekuläre Formen kommen ca. in der 12. Embryonalwoche vor. Tubulär-cystische Strukturen entsprechen späteren Embryonalwochen und somit einem höheren Differenzierungsgrad (Donath et al. 1978, Seifert und Schulz 1979). Bei unseren Untersuchungen fällt nun auf, daß der Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin in cystisch-tubulär angeordneten Tumorbereichen besonders stark war, solide Bereiche zeigten nur ausnahmsweise eine positive Reaktion. Dies läßt darauf schließen, daß der Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin vom Differenzierungsgrad der Tumorzellen abhängt. Ebenfalls Zusammenhänge zwischen dem Differenzierungsgrad der Tumorzellen und dem Nachweis von Tumormarkern fanden Goslin et al. (1981) beim Nachweis von CEA in kolorektalen Carcinomen, Ordonez und Mannig (1984) beim Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin in Leberzellcarcinomen und Tahara et al. (1984) beim Nachweis von Alpha₁-Antitrypsin in Magencarcinomen.

1980 erarbeitete Batsakis eine Theorie zur Entstehung der Speicheldrüsentumoren bei der er den verschiedenen Tumormformen verschiedene Differenzierungsstufen zuordnete, je nachdem wann der onkogene Reiz die zur Teilung befähigte Reservezelle traf (s. Abb.31).

Abb.31: (nach Batsakis 1980) Differenzierungsstufen einzelner Speicheldrüsentumoren



Auch hier läßt sich feststellen, daß Tumoren mit höherer Differenzierung stärker für Alpha_1 -Antichymotrypsin reagierten. Acinuszelltumoren waren neben Adenolymphomen die Gruppe mit der stärksten Reaktion. Undifferenzierte Carcinome reagierten kaum. Frühere Untersucher (Meister et al. 1980, Permatter und Meister 1984) fanden allerdings an anderen Organen gelegentlich eine Expression in gering oder entdifferenzierten Tumorformen, während in höher differenzierten Formen dieser Tumoren Alpha_1 -Antichymotrypsin nicht nachweisbar war. Diese Beobachtung konnten wir bei den Speicheldrüsentumoren nicht machen.

Nicht endgültig zu klären ist die Tatsache, warum so große Unterschiede in der Reaktionsstärke in gleich strukturierten Gebieten des gleichen Tumors bestehen. Ansätze zur Erklärung sind hier im verschiedenen Funktionszustand der Tumorzellen, in der Diffusion von Antigenen oder der Denaturierung von Zellen während des Tumorstwachstums zu suchen. Zusammenfassend ist zu sagen, daß Alpha_1 -Antichymotrypsin ein Marker für vorwiegend drüsig differenzierte Tumorzellen ist, wobei Zusammenhänge zwischen dem Differenzierungsgrad und der Stärke der Nachweisintensität gesehen werden können.

Beim Vergleich mit der benignen lymphoepithelialen Läsion der Speicheldrüsen zeigt sich, daß verbliebene Strukturen

des epithelialen Speicheldrüsengewebes reagieren wie im gesunden Gewebe, d.h. sich negativ für Alpha₁-Antichymotrypsin erweisen. Das lymphatische Infiltrat zeigte erwartungsgemäß (Motoi et al. 1980, Permanetter und Meister 1984) keine positive Reaktion, nur einzelne Makrophagen enthielten Alpha₁-Antichymotrypsin. Auch in den typischen Myoepithelinseln fand sich keine positive Reaktion. Immunhistochemisch ergibt sich somit kein Anhalt für einen erhöhten Gehalt an Alpha₁-Antichymotrypsin innerhalb der benignen lymphoepithelialen Läsion. Untersuchungen über das Verhalten des Serumspiegels von Alpha₁-Antichymotrypsin liegen im Gegensatz zu anderen Entzündungsgeschehen (M. Crohn-, Tuberkulose), bei denen ja ein deutlicher Anstieg beschrieben wurde (Nakasaki et al. 1981), nicht vor. Da die entzündlich reaktiv entstandenen Myoepithelinseln negativ für Alpha₁-Antichymotrypsin reagieren, kann diese negative Reaktion als Kriterium für die nichtneoplastische Genese angesehen werden, da umgekehrt das Vorkommen dieses Enzyminhibitors in neoplastischen Epithelien der Speicheldrüsen relativ charakteristisch ist.

Alpha₁-Antitrypsin:

Physiologischerweise dient das Alpha₁-Antitrypsin als sogenanntes "Abwehrprotein", es soll das Gewebe vor Proteolyse schützen. Eine Vielzahl von proteolytischen Enzymen wird von ihm inhibiert (Trypsin, Chymotrypsin, Kallikrein und Proteasen der Leukozyten). Erniedrigte Serumspiegel bei jungen Patienten sind vergesellschaftet mit Emphysem und juveniler Leberzirrhose. Physiologischerweise wird Alpha₁-Antitrypsin in der Leber gebildet und in das Blutplasma abgegeben, wo es eine Halbwertszeit von sechs Tagen besitzt (Carrell 1982). Auch Makrophagen sind wahrscheinlich in der Lage Alpha₁-Antitrypsin zu bilden. Van Furth (1983) konnte in vitro nachweisen, daß Monocyten und Lebergewebe, nicht jedoch Lymphocyten in der Lage sind Alpha₁-Antitrypsin neu zu synthetisieren. In ei-

nem gewissen Maß inhibiert es die Chemokinese und Chemotaxis von Monocyten und neutrophilen Granulocyten (Breit et al. 1983). Der immunhistochemische Nachweis von Alpha₁-Antitrypsin wird besonders zu diagnostischen Zwecken bei Histiozytomen verwandt (Isaacson 1981, du Boulay 1982, Nathrath und Meister 1982). In epithelialen Tumoren wurde es in Adenocarcinomen des Magens, der Leber und der Gallenblase gefunden (Kittas et al. 1982, Tahara et al. 1984, Ordoñez und Manning 1984, Aroni et al. 1984). Kittas et al. (1982) untersuchten das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin in Adenocarcinomen des Magens und des Dickdarms. Alle drei Enzyme fanden sie in Magencarcinomen, nicht jedoch in Dickdarmcarcinomen. Sie berichten weiter, daß Lymphknotenmetastasen der Magencarcinome das gleiche Enzymmuster aufwiesen wie der Primärtumor. Eine Relation zwischen immunhistochemischer Reaktion und Invasivität des Tumors konnten sie nicht beobachten. Ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen histologischem Typ und Invasivität des Tumors im Vergleich zum Nachweis der drei Enzyme fanden Aroni et al. (1984) in Gallenblasencarcinomen. Hingegen berichten Tahara et al. (1984), daß zwar gut differenzierte Adenocarcinome des Magens öfter positiv für Alpha₁-Antitrypsin seien, diese positiven Tumoren im klinischen Verlauf aber die schlechtere Prognose hätten.

Untersuchungen über das Vorkommen von Alpha₁-Antitrypsin in Speicheldrüsentumoren liegen bisher nicht vor. Wir fanden Alpha₁-Antitrypsin fast ausschließlich in Adenolymphomen und Onkocyotomen. Wobei die Adenolymphome besonders stark reagierten. Es ist bekannt, daß der epitheliale Anteil der Adenolymphome aus onkocyotären Zellen besteht (Hübner et al. 1971). Eine übereinstimmende Reaktion dieser beiden Tumorarten wäre dadurch zu erklären.

Andere Tumorarten reagierten nur sehr vereinzelt für Alpha₁-Antitrypsin. Auch die Acinuszelltumoren, die ja eine starke Reaktion für Alpha₁-Antichymotrypsin zeigten, reagierten praktisch nicht. Ein Zusammenhang zwischen den Reaktionsintensitäten für die beiden Enzyme läßt sich al-

so nicht sehen. Bei den vereinzelt positiven Reaktionen für Alpha₁-Antitrypsin fiel jedoch ebenfalls auf, daß bevorzugt tubulär-cystische Tumoreareale reagierten. Dies könnte auch einem Hinweis in Richtung höhere Differenzierung entsprechen. Warum nur einzelne Tumoren der jeweiligen Gruppe reagierten, läßt sich nicht endgültig klären. Ein Zusammenhang zwischen Invasivität des Tumors und Nachweis von Alpha₁-Antitrypsin läßt sich nicht erkennen. Ein Zusammenhang mit möglicherweise unterschiedlichen klinischen Verläufen bei positiven und nicht positiven Tumoren konnte im Gegensatz zu Tahara et al. (1984) nicht geprüft werden. Tahara et al. (1984) fanden zwar häufiger positive Reaktionen bei höher differenzierten Adenocarcinomen des Magens, innerhalb dieser positiv reagierenden Carcinomgruppe zeigte sich allerdings, daß Tumoren mit höherem Gehalt an Alpha₁-Antitrypsin den ungünstigeren klinischen Verlauf und somit die schlechtere Prognose hatten.

Zusammenfassend ist festzuhalten, daß Alpha₁-Antitrypsin in der vorliegenden Untersuchungsserie nahezu ausschließlich in Adenolymphomen und Onkocyten nachgewiesen werden konnte, ein Zusammenhang zwischen Invasivität und Reaktionsintensität auch bei diesen Tumoren nicht zu erkennen ist und Alpha₁-Antitrypsin als Tumormarker für diese schon histomorphologisch sehr klar definierten Tumoren keine Bedeutung haben dürfte.

III. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE

In der vorliegenden Untersuchung wurden insgesamt 77 verschiedene epitheliale Speicheldrüsentumoren und neun Speicheldrüsen mit Veränderungen entsprechend einer benignen lymphoepithelialen Läsion immunhistochemisch (indirekte Immunperoxidasemethode) auf das Vorkommen von Lysozym, Alpha₁-Antichymotrypsin und Alpha₁-Antitrypsin untersucht. Ziel der Arbeit war es, Beziehungen zwischen dem Nachweis dieser Enzyme und der Histogenese, Differenzierung sowie dem Verhalten der Speicheldrüsentumoren aufzudecken. Folgende Ergebnisse können festgehalten werden:

- 1) Lysozym konnte mit sehr wenigen Ausnahmen weder in Speicheldrüsentumoren noch in der benignen lymphoepithelialen Läsion nachgewiesen werden. Dieser unspezifischen Abwehrsubstanz des Phagozytensystems kommt demnach keine wesentliche Bedeutung für die Histogenese und das funktionelle Verhalten von Speicheldrüsentumoren zu.
- 2) Alpha₁-Antichymotrypsin konnte in nahezu allen Speicheldrüsentumoren als Marker für vorwiegend drüsige Strukturen nachgewiesen werden. Acinuszelltumoren und Adenolymphome reagierten am stärksten. Keine oder nur schwache Reaktionen zeigten Plattenepithel- und undifferenzierte Carcinome.
- 3) Ein Zusammenhang zwischen Differenzierung und Reaktionsintensität ergab sich beim Nachweis von Alpha₁-Antichymotrypsin. Tumorarten einer höheren Differenzierungsstufe und höher differenzierte Zellgruppen innerhalb eines Tumors zeigten stärkere Reaktionen als niedriger differenzierte.
- 4) Alpha₁-Antitrypsin konnte eindeutig nur in Adenolymphomen und Onkocytomen nachgewiesen werden. Diesem

Protein kommt weder eine wesentliche Bedeutung als Differenzierungsmarker noch als Marker für die Klassifizierung der Speicheldrüsentumoren zu.

- 5) Im lymphatischen Infiltrat und den typischen Myoepithelinseln der benignen lymphoepithelialen Läsion konnte weder Alpha_1 -Antichymotrypsin noch Alpha_1 -Antitrypsin nachgewiesen werden. Diese Tatsache könnte als Hinweis dafür gewertet werden, daß beide Enzym-inhibitoren als Marker für neoplastische Neubildungen auftreten können.

IV. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAMSON, T.C., FOX, R., FRISMAN, D.M., HOWELL, F.V.:
Immunohistologic Analysis of Lymphoid Infiltrates in
Primary Sjögren's Syndrome Using Monoclonal Antibodies.
J. Immunol. 130, 203, 1983
2. ALBEGGER, K.W., MÜLLER, O., ALBEGGER, C.:
Zur Circadianstruktur der Glandula parotis.
HNO 23, 233, 1975
3. ARONIK, K. et al.:
An Immunocytochemical Study of the Distribution of
Lysozyme, Alpha₁-Antichymotrypsin and Alpha₁-Antitryp-
sin in the Normal and Pathologic Gall Bladder.
Virchows Arch. A 403, 281, 1984
4. BATSAKIS, J.G.:
Salivary Gland Neoplasia: An Outcome of Modified
Morphogenesis and Cytodifferentiation.
Oral Surg. 49, 229, 1980
5. BERGROTH, V., REITAMO, S., KONTTINEN, Y.T., LALLA, M.:
Sensitivity and Nonspecific Staining of Various
Immunoperoxidase Techniques.
Histochemistry 68, 17, 1980
6. BERGROTH, V., REITAMO, S., KONTTINEN, Y.T., TOLVANEN, E.:
Fixation - Dependent Cytoplasmic False - Positive Stain-
ing with an Immunoperoxidase Method.
Histochemistry 73, 509, 1982
7. BIGBEE, J.W., KOSEK, J.C., ENG, L.F.:
Effects of Primary Antiserum Dilution on Staining of
"Antigen - rich" Tissues with the Peroxidase Antiper-
oxidase Technique.
J. Histochemistry and Cytochemistry 25, 443, 1977

8. BREIT, S.N., ROBINSON, J.P., PENNY, R.:
The Effect of Alpha₁-Antitrypsin on Phagozyte Function.
J. Clin. Lab. Immunol. 10, 147, 1983
9. du BOULAY, C.E.H.:
Demonstration of Alpha₁-Antitrypsin and Alpha₁-Anti-
chymotrypsin in Fibrous Histiocytomas Using the Immun-
peroxidase Technique.
Am. J. Surg. Pathol. 6, 559, 1982
10. BURNS, J.:
Background Staining and Sensitivity of the Unlabelled
Antibody-Enzyme (PAP) Method.
Histochemistry 43, 291, 1975
11. BURTIN, P., GRABAR, P.:
The Alpha₁-Globulins. In: Bier, M., Electrophoresis
Vol.II. Academic Press, New York, pp 142 (1967)
12. CARRELL, R.W. et al.:
Structure and Variation of Human Alpha₁-Antitrypsin.
Nature 298, 329, 1982
13. CASELITZ, J., JAUP, T., SEIFERT, G.:
Lactoferrin and Lysozyme in Carcinomas of the Parotid
Gland.
Virchows Arch. (Pathol. Anat.) 394, 61, 1981
14. CASELITZ, J., LÖNING, T.:
Specific Demonstration of Actin and Keratin Filaments
in Pleomorphic Adenomas by Means of Immunoelectron Mi-
croscopy.
Virchows Arch. (Pathol. Anat.) 393, 153, 1981

- 15) CASELITZ, J. et al.:
Amylase as an Additional Marker of Salivary Gland
Neoplasms.
Pathol. Res. Pract. 176, 276, 1983
- 16) CHAUDHRY, A.P. et al.:
Monomorphic Adenomas of the Parotid Glands.
Cancer 52, 112, 1983
- 17) CORIO, R.L.:
Epithelial - Myoepithelial Carcinoma of Intercalated
Duct Origin.
Oral Surg. 53, 280, 1982
- 18) DARDICK, I., VON NOSTRAND, P., PHILLIPS, M.J.:
Histogenesis of Salivary Gland Pleomorphic Adenoma
with an Evaluation of the Role of the Myoepithelial Cell.
Hum. Path. 13 (1), 62, 1982
- 19) DICK, W.:
Lysozym
Fortschr. Med. 100, 1230, 1982
- 20) DI LUZIO, N.R.:
Lysozyme Activity: An Index of Macrophage Funktional
Status. In: Neuberger, A., and Tatum, E.G. (Eds),
Applied Biology and Therapeutics. North Holland Publi-
shing Comp., Amsterdam, New York, London, pp 448 (1979)
- 21) DONATH, K., SEIFERT, G.:
Ultrastruktur und Pathogenese der myoepithelialen Sial-
adenitis.
Virchows Arch. A (Path. anat. and Histol.) 356, 315, 1972
- 22) DONATH, K., DIETRICH, H., SEIFERT, G.:
Entwicklung und ultrastrukturelle Cytodifferenzierung
der Parotis des Menschen.
Virchows Arch. A (Path. anat.⁷ and Histol.) 378, 297, 1973

- 23) EICHNER, H., EICHNER, V., MÜNZEL, M., HOCHSTRASSER, K.:
Simultanbestimmungen von Lysozym- und Immunglobulin A-
Gehalt von menschlichem Parotissekret im Vergleich zu
Flußrate und Gesamtproteinausscheidung bei fraktionier-
ter Ruhe- und Reizabnahme.
Laryng. Rhinol. 54, 554, 1975
- 24) ENEROTH, C.M., BLANCK, C., JAKOBSSON, P.A.:
Carcinoma in Pleomorphic Adenoma of the Parotid Gland.
Acta Otolaryngol. 66, 477, 1968
- 25) EVERSOLE, L.R.:
Histogenetic Classification of Salivary Tumors.
Arch. Pathol. 92, 433, 1971
- 26) FOX, R.I. et al.:
Use of Monoclonal Antibodies to Analyze Peripheral
Blood and Salivary Gland Lymphocyte Subsets in Sjög-
rens Syndrome.
Arthritis and Rheum. 25, 419, 1982
- 27) FURTH, R., van, KRAMPS, J.A., DIESSELHOF-den DULK, M.M.C.:
Synthesis of Alpha₁-Antitrypsin by Human Monocytes.
Clin. Exp. Immunol. 51, 551, 1983
- 28) GEBOES, K. et al.:
Immunohistochemical Identification of Lysozyme in Pseu-
dopyloric Gland Metaplasia in Crohns Disease.
Hepatogastroenterol. 30, 158, 1983
- 29) GOSLIN, R. et al.:
Correlation of Plasma CEA and CEA Tissue Staining in
Poorly Differentiated Colorectal Cancer.
Am. J. Med. 71, 246, 1981

- 30) HARA, K. et al.:
Distribution of S-100B Protein in Normal Salivary Glands
and Salivary Gland Tumors.
Virchows Arch. A 401, 237, 1983
- 31) HÜBNER, G.:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Speicheldrü-
sengeschwülsten.
HNO 19, 137, 1971
- 32) HÜBNER, G., KLEIN, H.J., KLEINSASSER, O., SCHIEFER, H.G.:
Role of Myoeptihelial Cells in the Development of Sali-
vary Gland Tumors.
Cancer 27, 1255, 1971
- 33) HUNTER, R.M., DAVIS, B.W., GRAY, G.F., ROSENFELD, L.:
Primary Malignant Tumors of Salivary Gland Origin.
Am. Surg. 49, 82, 1983.
- 34) IIZUKA, K., TOGAWA, K., KONNO, A.:
The Histogenesis of So-called Mixed Tumor
Evaluating from Parotin Binding.
Arch. Otorhinolaryngol. 233, 137, 1981
- 35) ISAACSON, P. et al.:
Alpha₁-Antitrypsin in Human Macrophages.
J. Clin. Pathol. 34, 982, 1981
- 36) KITTAS, C. et al.:
Distribution of Lysozyme, Alpha₁-Antichymotrypsin, and
Alpha₁-Antitrypsin in Adenocarcinomas of the Stomach
and Large Intestine.
Virchows Arch. A 398, 139, 1982

- 37) KLEINSASSER, O., KLEIN, H.J., STEINBACH, E., HÜBNER, G.:
Onkocytäre adenomartige Hyperplasien, Adenolymphome
und Onkocytome der Speicheldrüsen.
Arch. klin. exper. Ohren-, Nasen- und Kehlkopfheil-
kunde 186, 317, 1966
- 38) KLEINSASSER, O., KLEIN, H.J., HÜBNER, G.:
Speicheldrüsengangcarcinome
Arch. klin. exper. Ohren-, Nasen- und Kehlkopfheil-
kunde 192, 100, 1968
- 39) KLEINSASSER, O., HÜBNER, G., KLEIN, H.J.:
Zur Histogenese der Cylindrome.
Arch. klin. exper. Ohren-, Nasen- u. Kehlkopfheilk.
195, 192, 1969
- 40) KLOCKARS, M., REITAMO, S.:
Tissue Distribution of Lysozyme in Man.
J. Histochemistry and Cytochemistry 23, 932, 1975
- 41) KORSRUD, F.R., BRANDTZAEG, P.:
Characterization of Epithelial Elements in Human Major
Salivary Glands by Functional Markers.
J. Histochemistry and Cytochemistry 30, 657, 1982
- 42) KORSRUD, F.R., BRANDTZAEG, P.:
Immunofluorescence Study of Secretory Epithelial Mar-
kers in Pleomorphic Adenomas.
Virchows Arch. A 403, 291, 1984
- 43) KOTT, E.T. et al.:
Lymphoepithelial Carcinoma of the Salivary Glands.
Arch. Otolaryngol. 111, 50, 1984

- 44) KRAUS, F.W., MESTECKY J.:
Immunohistochemical Localization of Amylase, Lysozyme,
and Immunglobulins in the Human Parotid Gland
Arch. Oral. Biol. 16, 781, 1971
- 45) LEJEUNE, F.J., VERKAMMEN-GRANDJEAN, A.:
Secretory Activity of Macrophages in Relation to Cyto-
toxicity and Modulation of Cell Function.
Front. of Biol. 48, 426, 1979
- 46) LENNERT, K., KNECHT, H., BURKERT, M.:
Vorstadien maligner Lymphome.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 63, 170, 1979
- 47) MASON, D.Y., TAYLOR, C.R.:
The Distribution of Muramidase (Lysozyme) in Human
Tissues.
J. Clin. Pathol. 28, 124, 1975
- 48) MEISTER, P., NATHRATH, W., KONRAD, E., PERMANETTER, W.:
Immunhistochemische Markierung histiozytärer Tumorzellen.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 64, 441, 1980
- 49) MEISTER, P., NATHRATH, W.:
Immunhistochemical Characterization of Histiocytic Tumors.
Diagnostic Histopathology 4, 79, 1981
- 50) MENDELSON, G., EGGLESTON, J., MANN, R.B.:
Relationship of Lysozyme (Muramidase) to Histiocytic
Differentiation in Malignant Histiocytosis.
Cancer 45, 273, 1980
- 51) MINTZ, G.A., ABRAMS, A.M., MELROSE, R.J.:
Monomorphic Adenomas of the Major and Minor Salivary Glands.
Oral Surg. 53, 375, 1982

- 52) MOTOI, M., STEIN, H., LENNERT, K.:
Demonstration of Lysozyme, Alpha₁-Antichymotrypsin,
Alpha₁-Antitrypsin, Albumin, and Transferrin with
the Immunoperoxidase Method in Lymph Node Cells.
Virchows Arch. B 35, 73, 1980
- 53) NAGAO, K. et al.:
A Histopathologic Study of Benign and Malignant
Lymphoepithelial Lesions of the Parotid Gland.
Cancer 52, 1044, 1983
- 54) NAGURA, H. et al.:
Immunohistochemistry of CEA, Secretory Component and
Lysozyme in Benign and Malignant Common Bile Duct Tissues.
Virchows Arch. (Pathol. Anat.) 403, 271, 1984
- 55) NAKASAKI, H. et al.:
Clinical Significance of a Serum DNA Binding Protein
(64 - DP) in Evaluating Malignant Diseases.
Gann 72, 280, 1981
- 56) NASH, J.R.G.:
Macrophages in Human Tumors: An Immunohistochemical Study.
J. Pathology 136, 73, 1982
- 57) NATHRATH, W.B.J., MEISTER, P.:
Lysozyme (Muramidase) and Alpha₁-Antichymotrypsin as Im-
munohistochemical Tumor Markers.
Acta histochemica XXV, 69, 1982
- 58) NATHRATH, W., HEIDENKUMMER, P., BJÖRKLUND, V.,
BJÖRKLUND, B.:
Distribution of Tissue Polypeptide Antigen in Normal
Human Tissues.
J. Histochemistry Cytochemistry 33, 99, 1985

- 59) ORDONEZ, N.G., MANNIG, J.T.:
Comparison of Alpha₁-Antitrypsin and Alpha₁-Antichymotrypsin in Hepatocellular Carcinoma.
Am. J. Gastroenterology 79, 959, 1984
- 60) OSSERMANN, E.F. et al.:
Effects of Lysozyme on Normal and Transformed Mammalian Cells.
Nature 243, 331, 1973
- 61) PENNEC, A. et al.:
Lysozyme, Immunoglobulines et Beta₂-Microglobuline salivaire au cours du Syndrome de Gougerot - Sjögren.
Nouv. Presse Med. 11, 3481, 1982
- 62) PERMANETTER, W., MEISTER, P.:
Distribution of Lysozyme (Muramidase) and Alpha₁-Antichymotrypsin in Normal and Neoplastic Epithelial Tissues: A Survey.
Acta histochem. 74, 173, 1984
- 63) PIERCE, G.B.:
Neoplasms, Differentiations and Mutations.
Am. J. Pathol. 77, 103, 1974
- 64) PINKUS, G.S., SAID, J.W.:
Profile of Intracytoplasmatic Lysozyme in Normal Tissues, Myeloproliferative Disorders, Hairy Cell Leukemia, and Other Pathologic Processes.
Am. J. Pathol. 89, 351, 1977
- 65) REGEZI, J.A., BATSAKIS, J.G.:
Histogenesis of Salivary Gland Neoplasms.
Otolaryngol. Clin. N. Am. 10, 297, 1977

- 66) REITAMO, S.:
Lysozyme Antigenicity and Tissue Fixation.
Histochemistry 55, 197, 1978
- 67) REITAMO, S., KONTTINEN, Y.T., SEGERBERG-KONTTINEN, M.:
Distribution of Lactoferrin in Human Salivary Glands.
Histochemistry 66, 285, 1980
- 68) SCIUBBA, J., BRANNON, R.B.:
Myoepithelioma of Salivary Glands.
Cancer 49, 562, 1982
- 69) SEIFERT, G.:
Die Mundspeicheldrüsen. In: Spezielle pathologische
Anatomie. Bd.1, herausgeg. von W. Doerr, E. Uehlinger.
Springer Verl., Berlin, Heidelberg, New York, pp 161 (1966)
- 70) SEIFERT, G., DONATH, K.:
Die Morphologie der Speicheldrüsenerkrankungen.
Arch. Otorhinolaryng. 213, 111, 1976
- 71) SEIFERT, G., DONATH, K.:
Classification of the Pathohistology of Diseases of
the Salivary Glands - Review of 2,600 Cases in the
Salivary Gland Register.
Beitr. Path. Bd. 159, 1, 1976
- 72) SEIFERT, G., SCHULZ, C.P.:
Das monomorphe Speichelgangadenom.
Virchows Arch. A. 383, 77, 1979
- 73) SEIFERT, G.:
Der Einsatz von Tumormarkern bei der Diagnostik von
Speicheldrüsentumoren.
Wien. klin. Wochenschr. 94, 372, 1982

- 74) SEIFERT, G., CASELITZ, J.:
Tumor Markers in Parotid Gland Carcinomas.
Cancer Detect. Prev. 6, 119, 1983
- 75) SHARKEY, F.E.:
Systematic Evaluation of the World Health Organization
Classification of Salivary Gland Tumors.
Am. J. Clin. Pathol. 67, 272, 1978
- 76) SPITZ, M.R., BATSAKIS, J.G.:
Major Salivary Gland Carcinoma.
Arch. Otolaryngol. 110, 45, 1984
- 77) TAHARA, E. et al.:
Alpha₁-Antitrypsin, Alpha₁-Antichymotrypsin, Alpha₂-
Macroglobulin in Human Gastric Carcinomas.
Hum. Path. 15, 957, 1984
- 78) TAKADA, S. et al.:
Analysis of the Tissue and Cellular Localization of
Alpha₁-Antichymotrypsin by an Immunohistochemical
Technique.
Gann 73, 742, 1982
- 79) TAYLOR, C.R.:
Immunoperoxidase Techniques.
Arch. Pathol. Lab. Med. 102, 113, 1978
- 80) THACKRAY, A.C., SOBIN, L.H.:
Histological Typing of Salivary Gland Tumors.
WHO Int. Histol. Classif. Tumors, no.7, Geneva, 1972
- 81) TOIDA, M. et al.:
Histochemical Studies of Intercellular Components of
Salivary Gland Tumors with Special Reference to Glycos-
aminoglycan, Laminin and Vascular Elements.
Virchows Arch. A 403, 15, 1984

- 82) VIGLIANI, R., STRAMIGNONI, A.:
Cytologic Localization of Antigens from Human Saliva
in Pleomorphic Adenomas of Salivary Glands.
Cancer 48, 293, 1981
- 83) WEBER, K. et al.:
Tissue Polypeptide Antigen Is Related to the Non-Epi-
dermal Keratins 8, 18 and 19 Typical of Simple and
Non-Squamous Epithelia: Re-Evaluation of a Human Tu-
mor Marker.
Embo. Journal 3, 2707, 1984
- 84) WEISS, H.:
Zur Pathogenese des malignen Mukoepidermoidtumors.
Z. Laryng. Rhinol. 43, 39, 1964
- 85) WELSH, R.A., MEYER, A.T.:
Mixed Tumors of Human Salivary Gland. Histogenesis.
Arch. Pathol. 85, 433, 1968
- 86) WITTING, C.:
Immunofluorescence Studies on Formalin-Fixed and
Paraffin-Embedded Material.
Beitr. Path. 16, 288, 1977

Herrn Priv.-Doz. Dr. W. Permanetter möchte ich für die Überlassung des Themas danken; besonderer Dank gilt seiner stets freundlichen und hilfsbereiten Mitarbeit zur Überwindung der innerhalb dieser Arbeit aufgetretenen Probleme.

Herrn Prof. Dr. M. Eder möchte ich für die Möglichkeit danken im Pathologischen Institut der Universität München die notwendigen Untersuchungen für diese Arbeit durchzuführen.

Dank gilt ebenfalls Frl. Vaupel und Frl. Fuckel für die Unterstützung bei den praktischen Laborarbeiten.

L E B E N S L A U F

Name: Ralf Schmid
geboren: 02.10.1959
in: Dachau
Familienstand: ledig
Staatsangehörigkeit: deutsch
Eltern: Josef Schmid, Industriekaufmann
Isolde Schmid, geb. Kremer

SCHULBILDUNG:

1966 - 1970 Volksschule, München
1970 - 1979 Max-Planck-Gymnasium, München
Juni 1979 Allgemeine Hochschulreife

HOCHSCHULSTUDIUM DER MEDIZIN:

1979 - 1985 Ludwig-Maximilians-Universität, München

1981 Ärztliche Vorprüfung,
1982 Ärztliche Prüfung, 1. Abschnitt
1984 Ärztliche Prüfung, 2. Abschnitt
1985 Ärztliche Prüfung, 3. Abschnitt

Ärztliche Approbation 21. November 1985

